

Tesis Doctoral

Caracterización estructural y propiedades funcionales de las harinas de los frutos de *Prosopis alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC. Desarrollo de un proceso de secado, molienda y mezcla para optimizar la calidad del producto

Mom, María Pía

2012-12-17

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Mom, María Pía. (2012-12-17). Caracterización estructural y propiedades funcionales de las harinas de los frutos de *Prosopis alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC. Desarrollo de un proceso de secado, molienda y mezcla para optimizar la calidad del producto. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Mom, María Pía. "Caracterización estructural y propiedades funcionales de las harinas de los frutos de *Prosopis alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC. Desarrollo de un proceso de secado, molienda y mezcla para optimizar la calidad del producto". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2012-12-17.

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental

Caracterización estructural y propiedades funcionales de las harinas de los frutos de *Prosopis alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC.
Desarrollo de un proceso de secado, molienda y mezcla para optimizar la calidad del producto

Tesis presentada para optar al grado de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área: CIENCIAS BIOLÓGICAS

María Pía Mom

Director de tesis: Dra. María Águeda Castro
Director Asistente: Dra. Marcela Patricia Tolaba
Consejero de Estudios: Dra. Patricia Adriana Hoc

Lugar de trabajo: Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, FCEN, UBA
Departamento de Industrias, FCEN, UBA

Buenos Aires, 2012

Resumen

Caracterización estructural y propiedades funcionales de las harinas de los frutos de *Prosopis alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC. Desarrollo de un proceso de secado, molienda y mezcla para optimizar la calidad del producto

Prosopis alba, *P. chilensis* y *P. flexuosa* “algarrobos”, características en las regiones fitogeográficas del Chaco y Monte, Argentina, constituyen un recurso natural con innumerables aplicaciones. Si bien el progresivo avance de la desertización ha puesto en riesgo a estas comunidades vegetales, es indudable que en la actualidad constituyen una fuente inagotable de productos y subproductos.

A partir del estudio de los caracteres estructurales (micro, ultra, nano), propiedades funcionales y color de los frutos y harinas de *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*, se desarrolló un proceso de secado, molienda y mezcla.

Se analizaron y discutieron las observaciones con microscopio óptico (MO), microscopio electrónico de barrido ambiental (MEBA) y con campo de emisión (FESEM), microscopio electrónico de transmisión (MET) y microscopio de fuerza atómica (MFA). Se caracterizaron las harinas de las distintas especies en función de la granulometría, la capacidad de absorción de agua, la capacidad de absorción de aceite, la solubilidad y el color.

La investigación permitió optimizar el proceso, elaborar harina enriquecida con proteínas a partir de *P. chilensis* y proponer una mezcla de fácil formulación.

El estudio constituye un aval para lograr la incorporación de *P. chilensis* al Código Alimentario Argentino.

Palabras claves: *P. alba*, *P. chilensis*, *P. flexuosa*, ultraestructura, nanoestructura, secado, molienda, granulometría, propiedades funcionales, color.

Abstract

Structural characterization and functional properties of flour from fruits of *Prosopis alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart and *P. flexuosa* DC. An approach of a drying, grinding and mixing process to optimize the product quality.

Prosopis alba, *P. chilensis* and *P. flexuosa* “algarrobos”, are natives resources from the phytogeographic regions of Chaco and Monte, Argentina, with multiple applications. Although the progressive advance of desertification has affected these species, they still constitute a valious source to obtain products and subproducts.

A drying and grinding process to optimize the production and quality of the flours was assayed.

Light microscope (LM), environmental scanning electron microscope (ESEM) and field emission (FESEM), transmission electron microscope (TEM) and atomic force microscope (AFM) observations were analyzed and discussed. Structural features (micro, ultra, nano), functional properties (granulometry, water and oil absorption capacity, solubility) and color of raw fruits and flours were documented.

The present research allowed to obtain protein-enriched flour from *P. chilensis* and also contributed to propose a simple formulation mixture with high nutritional value.

The study would constitute a certification to attain the *P. chilensis* inclusion into the Código Alimentario Argentino.

Key words: *P. alba*, *P. chilensis*, *P. flexuosa*, ultrastructure, nanostructure, drying, milling, granulometry, functional properties, color.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires por proporcionarme los conocimientos, el espacio y los medios para poder realizar esta tesis.

A la Dra. María A. Castro, por su profundo compromiso profesional y personal, conocimiento científico y respeto a mis ideas, acompañándome en mi trabajo y evolución.

A la Dra. Marcela Patricia Tolaba, por interpretarme, poniendo a mi disposición todos sus conocimientos, elementos, colegas, apoyo, comprensión, comunión e infinita paciencia.

A la Dra. Nerina Camino, por su invaluable y desinteresada colaboración en la utilización del equipo **Mastersizer 2000** (Malvern Instruments, Worcestershire United Kingdom), con profunda gratitud.

A la Dra. Lía Pietrasanta y sus colaboradores: Claudia, Natalio y Silvio del CMA y a Andrea de INTI – SEGEMAR, por los servicios de microscopía: FESEM-EDAX, MET, MFA y MEBA-EDAX, respectivamente.

A todos mis compañeros, por tanto y tantas veces que me ayudaron y apoyaron: Alicia, Magda, Susana, Eugenia, Joaquín, Rober, Liliana, Lucía, Paula, Diego, María Ana, Fabiana, Sonia, Marité, Hernán y a todos los demás que durante tantos años me acompañaron.

A mis padres, Cabe, Lita, mi familia y a mis incondicionales amigos del alma y del algarrobo: Vicky, Titi, Laura, Paula, Fafa, Cecilia, Marie, Luz, Nelita,....

Y a mis hijos, María y Bautista, por su amor, confianza, tolerancia y apoyo, creando en mí, la necesidad de ser cada día una persona mejor.

A mis hijos María y Bautista,
y a su padre, José M. French

Índice

Resumen.....	2
Abstract.....	3
Agradecimientos.....	4
Dedicatoria.....	5
Índice.....	6
1. Introducción.....	8
1.1. El género <i>Prosopis</i> L.....	8
1.2. Caracterización del fruto y las semillas de <i>Prosopis</i> sp.....	14
1.3. El “algarrobo” como alimento	16
1.4. Composición química y valoración nutricional.....	20
1.5. Principios activos y factores antinutricionales.....	22
1.6. Producción y cosecha de “algarrobos”.....	26
1.7. Secado de los frutos de “algarrobo”.....	27
1.8. Moliendas generalidades.....	31
1.8.1. Harinas.....	33
1.9. Caracterización física y química de las moliendas.....	38
1.9.1. Caracterización de las harinas obtenidas.....	38
2. Objetivos e hipótesis de trabajo.....	45
2.1. Objetivos generales y específicos.....	45
2.2. Hipótesis.....	46
3. Materiales y métodos.....	48
3.1. Materiales.....	48
3.2. Métodos.....	49
3.2.1. Limpieza y acondicionamiento de los materiales para su estudio.....	49
3.2.2. Secado.....	50
3.2.3. Molienda y tamizado.....	53
3.2.4. Rendimiento de la molienda.....	58
3.2.5. Distribución del tamaño de la partícula.....	58
3.2.6. Composición química de las fracciones.....	60
3.2.7. Determinación del color de la harina.....	60
3.2.8. Determinación de la capacidad de absorción de agua.....	61
3.2.9. Determinación de la capacidad de absorción de grasa.....	62
3.3. Estudios anatómicos.....	63

3.4. Análisis estadístico de los datos de color.....	66
4. Resultados.....	68
4.1. <i>Prosopis alba</i> Griseb.....	68
4.1.1. Caracteres exomorfológicos.Descripción general.....	68
4.1.2. Fruto, semilla y cuerpos proteicos. Caracteres estructurales.....	71
4.2. <i>Prosopis chilensis</i> (Molina) Stuntz emend. Burkart.....	85
4.2.1. Caracteres exomorfológicos. Descripción general.....	85
4.2.2. Fruto, semilla y cuerpos proteicos. Caracteres estructurales.....	88
4.3. <i>Prosopis flexuosa</i> DC.....	116
4.3.1 Caracteres exomorfológicos.Descripción general.....	116
4.3.2. Fruto, semilla y cuerpos proteicos. Caracteres estructurales.....	119
4.4.Secado.....	132
4.5. Molienda.....	144
4.6. Granulometría.....	162
4.6.1. Distribución del tamaño de las partículas (DTP).....	162
4.7. Capacidad de absorción de agua.....	174
4.8. Capacidad de absorción de grasa.....	175
4.9. Color.....	176
4.10. Propuesta de mezcla.....	181
5. Discusión.....	184
6. Conclusiones.....	196
7.Bibliografía.....	199
8. Anexo.....	215

Introducción

1.1. El género *Prosopis* L.

El género *Prosopis* Linnaeus emend. Burkart (Fabaceae - Mimosoideae, tribu Adenanthereae) comprende árboles, arbustos y raramente subarbustos, con hojas bipinnadas, comúnmente con escasos pares de pinnas opuestas, sólo en unas pocas especies subáfilas, reducidas, pinnadas, paucifolioladas; el pecíolo presenta una glándula apical, circular, sécil y a veces unas similares, más pequeñas, sobre el raquis de las pinnas. Los folíolos son pequeños, numerosos, opuestos, lineares, oblongos, fusiformes, raramente grandes (en *P. ruscifolia*), enteros, del mismo color en ambos lados. La venación es pinnada y poco prominente.

Las ramas, en la mayoría de las especies son dimórficas; megablastos largos, flexuosos, nudosos con la edad; braquiblastos o ramas cortas emergen de yemas axilares múltiples, que cuando presentes, se transforman en espinas caulinares.

Las flores son entomófilas, pequeñas, actinomorfas, pentámeras, hermafroditas, blanco-verdosas, amarillentas con la edad, rara vez rojas. La prefoliación es valvada. El cáliz es campanulado. La corola presenta pétalos lineares, soldados o más o menos libres, glabros o pubescentes, frecuentemente vellosos o pilosos interiormente. El androceo posee dos ciclos de cinco estambres libres, con anteras elípticas, dorsifijas, introrsas, que exhiben una glándula conectiva apical pedicelada, globosa u ovoide. Los granos de polen son subesféricos y tricolpados. El ovario es súpero, estipitado, velloso o a veces glabro. La antesis aparentemente es protógina. Las flores se agrupan en racimos espiciformes, amentiformes, axilares.

El fruto es una legumbre indehiscente, llamada lomento drupáceo, caracterizada por la diversidad de formas: lineal, recta, falcada, anular a espiralada. Presenta una variada distribución de cada uno de sus componentes: epicarpo, mesocarpo, endocarpo y semillas. El endocarpo forma una estructura cerrada e indehiscente, de diferentes espesores, y su tamaño guarda una relación directa con el tamaño de las semillas.

Las semillas son ovoides, comprimidas, resistentes, de color marrón. Presentan línea fisural, endosperma rico en galactomananos y embrión con dos

cotiledones, epígeos al germinar. Las especies del género son casi todas diploides, con número somático $2n = 28$. Los cromosomas son pequeños y uniformes (Burkart, 1976; Cosiansi *et al.*, 2005).

El género es originario de África y comprende cinco Secciones: *Prosopis*, *Anonychium*, *Strombocarpa*, *Monilicarpa* y *Algarobia*. Las secciones: *Prosopis* y *Anonychium* tienen distribución afroasiática y las tres restantes en América: *Monilicarpa*, con una sola especie, está restringida a la región centro oeste de Argentina; *Strombocarpa* con siete especies, se encuentra en América del Norte y del Sur y *Algarobia* con alrededor de 30 especies, registra una amplia distribución en el sur de Estados Unidos, México, la costa del océano Pacífico de América Central, las costas de Colombia, Venezuela e islas del Caribe, y hacia el sur, desde Ecuador hasta Argentina. Con respecto a la Sección *Algarobia*, se consideran dos grandes centros disyuntos de dispersión: el Tejano - mejicano y el Argentino – paraguayo - chileno. El centro de polimorfismo del género se encuentra en Argentina (Burkart, 1976).

Dada la hibridación frecuente entre especies, genetistas y taxónomos han abordado, desde el punto de vista taxonómico, la investigación del género *Prosopis* L., publicando numerosas revisiones (Burkart, 1940, 1976; Benson, 1941; Johnston, 1962; Folliot & Thames, 1983; Rzedowski, 1988; Galindo-Almanza *et al.*, 1986; Hultine, 2000; Palacios, 2006).

Constituye un componente importante de la vegetación de zonas áridas y semiáridas, caracterizadas por la escasez de agua, la baja fertilidad de los suelos y, a menudo, la alta salinidad. Como estrategias para detener el avance de la desertificación, su presencia contribuye a la desalinización, minimiza el escurrimiento del suelo y controla la erosión.

Argentina, es el mayor centro de variación actual del género, con 27 especies de las cuales 13 son endémicas. El 60 % del total de especies del género tiene un área de distribución que abarca la mayoría del territorio continental excepto el sur de la Patagonia y la Provincia de Misiones (Burkart, 1937, 1940, 1943, 1949, 1952, 1976; Johnston, 1962; Morello *et al.*, 1971; Carman, 1973; Palacios y Bravo, 1974 a y b, 1981; Hunziker *et al.*, 1975, 1986; Simpson, 1977; Martínez, 1984; Brizuela *et al.*, 1988; Castillo de Meier, *et al.*, 1999).

Son especies xerofíticas, que soportan 50 – 1400 mm de precipitación anual. Crecen en suelos arenosos, arcillosos, salinos, rocosos e inundables, desde el nivel del mar hasta los 3000 msnm, alcanzando *Prosopis ferox* los 3700 m de altitud en La Puna (Burkart, 1976; Braun Wilke, 1988).

Como freatófita, desarrolla un profundo sistema radical que puede alcanzar hasta 58 m de profundidad, posibilitando el desarrollo de los ejemplares en áreas con lluvias muy inferiores a los requerimientos normales (Roig, 1993b).

El característico crecimiento del sistema radicular, la capacidad de generar simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno, la presencia de “islas de fertilidad” bajo su canopia, el aporte de materia orgánica al suelo que mejora las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del mismo, son algunas de las ventajas enumeradas para las especies del género. Es interesante mencionar que además, permiten estabilizar médanos, constituir barreras contra el viento, generar sistemas agroforestales y/o silvopastoriles, proveer sombra y brindar refugio para la flora y la fauna (Grados *et al.*, 2004).

En ambientes con restricciones ecológicas, se cita que el nitrógeno potencial fijado durante un año, es 30 - 50 kg por árbol y por hectárea (Galera, informe FAO).

Las especies del género, registran un alto potencial biológico para la diseminación y la colonización. La propagación de las resistentes semillas es endozoica. La dureza e impermeabilidad del tegumento seminal impide la germinación. La escarificación mecánica o química ocurre pasando a través del tracto digestivo de animales domésticos (vacas, ovejas o cabras) o salvajes (guanacos, zorros, etc.). La dormición, permite la regulación temporal y espacial de la germinación en zonas donde las condiciones favorables raramente se dan, constituyendo una adaptación para la supervivencia y dispersión de las especies. La alta viabilidad de las semillas en especies arbóreas, la rapidez del proceso germinativo en condiciones favorables y el rápido crecimiento radical, permiten el máximo aprovechamiento del agua en los momentos de mayor disponibilidad. En general, la temperatura óptima (mínima y máxima) de germinación para las especies es 10 - 45° C respectivamente. En particular, en *P. chilensis* las temperaturas mínima y máxima son 25 y 40° C; en *P. flexuosa*: 20 y 30° C; en *P. alpataco* y *P.*

argentina, 15 y 40° C, respectivamente. Estas altas temperaturas pueden interpretarse como un ajuste térmico de las especies a la época de mayor disponibilidad hídrica en su área de distribución (Burkart, 1976, Villagra *et al.*, 2004).

Las especies analizadas en el presente trabajo de investigación se hallan en la provincia fitogeográfica del Chaco y en la provincia fitogeográfica del Monte.

La provincia fitogeográfica del Chaco, en el área centro-norte del país, incluye las provincias de Formosa, Chaco, este de Salta, de Jujuy, de Tucumán, de Catamarca y de La Rioja, todo Santiago del Estero, norte de San Luis, de Córdoba y de Santa Fe, y noroeste de Corrientes. Abarca una superficie total de 52 millones de hectáreas, con 500 - 1300 mm de precipitación anual (principalmente estivales), -6 – 45° C de temperaturas (temperatura media 20 – 23° C). El tipo de vegetación predominante es el bosque xerófilo caducifolio. En esta zona la profundidad de la napa freática es 4 - 15 m y el suelo se caracteriza por ser arcilloso. En el Distrito Chaqueño Oriental, *P. alba* se presenta como especie arbórea secundaria junto con otros géneros y a veces, también, formando comunidades edáficas en suelos alcalinos mezclados con palmares de caranday (*Copernicia australis*) (Cabrera, 1971; Burkart, 1976; Roig, 1993a; Coirini y Karlín, 1999; Prokopiuk, 2004).

La provincia fitogeográfica del Monte, en la franja oeste, árido templada del país, abarca el sur de la Provincia de Salta, centro de Catamarca y La Rioja, centro y este de San Juan, Mendoza y Neuquén, oeste de La Pampa, centro y este de Río Negro hasta el noreste del Chubut. Forma amplios ecotonos con las provincias del Chaco y del Espinal. Su clima es seco y cálido en la porción septentrional y seco y fresco en la meridional, registra 80 – 200 mm de precipitaciones anuales (estivales en el norte y durante el invierno y primavera en el sur). La temperatura media de la región es 13,4 - 17,5° C. Los suelos son arenosos y profundos muy permeables a rocosos, salinos. En el área, predominan las estepas arbustivas xerófilas, halófilas y los bosques marginales de Mimosoideas (Cabrera, 1971; Burkart, 1976; Roig, 1993a).

En 1980, la FAO incluyó, entre otras nativas de América Latina, a las especies del género *Prosopis* L., dentro del proyecto FAO/IBPGR titulado:

“Recursos genéticos de especies arbóreas de zonas áridas y semiáridas para el mejoramiento de la vida rural”.

En contraposición a la agricultura de los últimos 50 años, que apuntaba a pocas especies mejoradas para producir altos rendimientos, en la actualidad la consigna es aumentar la biodiversidad, proteger el ambiente, revalorizar las especies nativas y contribuir al uso sostenible de los recursos para la obtención de alimentos y productos de uso industrial (SAGPyA, 2000; Escobar *et al.*, 2009).

La importancia del género dentro de las culturas originarias ha sido muy significativa en el pasado y aún hoy sigue vigente, a pesar de la deforestación y los cambios culturales. Es valorado por sus múltiples aplicaciones que incluyen, entre otras, la industria forestal (madera, leña y carbón), alimentación humana (miel, bebidas, patay), alimentación animal, fitomedicina, obtención de aceite, gomas, azúcares, fibras y resinas polifenólicas. Desde el punto de vista socio-económico representa un recurso seguro contra el hambre y la creación de puestos de trabajo de mano de obra no especializada (Burkart, 1976; CORD, 1992; Fagg y Stewart, 1994; Pasiecznik, *et al.*, 2001; Barra de la Rosa, 2006; Escobar, 2009).

El origen de la palabra *Prosopis* L. proviene del griego antiguo y podría significar, "hacia la abundancia" de *pros* = hacia y *Opis* = diosa de la abundancia y la agricultura. El nombre *Prosopis*, fue elegido por Linneo en 1767, para describir, en la India, la especie tipo del género, *P. spicigera* Linnaeus (actualmente *P. cineraria* (L.) Druce), cuyo fruto es espinoso (Burkart, 1976; Perry, 1988; Alvarez *et al.*, 2009).

Cuando los conquistadores españoles arribaron a Perú en 1532, denominaron “algarrobo” a *P. pallida* por su similitud con el algarrobo europeo, *Ceratonia siliqua* Linn, ambas con troncos retorcidos y frutos dulces palatables (Burkart, 1952; Tortorelli, 1956; D ’Antoni, 1970).

En la actualidad, en Sudamérica, el nombre vernáculo utilizado para las especies arbóreas de este género es “algarrobo”. Entre otras denominaciones también figuran: “plumo de oro” (Cuba); “thacco” o “guarango” (Perú); “mancacaballo” (Panamá); “carbón” (Costa Rica); “trupillo” (Colombia); “cuji”

(Venezuela); “mezquite” (Méjico , Estados Unidos) (Simpson, 1977; Cruz, 1992; Villanueva *et al.*, 2009).

Fernández de Oviedo y Valdés (1535) cita, en la crónica sobre historia de las Indias, que durante las cruzadas, se utilizaron las algarrobas para elaborar pan y miel. Cuando los españoles arribaron a Sudamérica observaron que los pobladores originarios, especialmente de Perú, Chile y Argentina, incluían frutos de *Prosopis* L. en sus dietas (Silva, 1988).

Las Crónicas y Archivos del Perú (1547-1960) confirman la recolección de frutos de algarrobo y su almacenamiento, para épocas de carencia de alimentos, tanto para el hombre como para animales (chanchos y cabras). Este autor reporta la elaboración de harina para preparar una especie de pan y bebidas alcohólicas. Restos arqueobotánicos datados entre 10000 AC - 1500 DC, hallados en el valle de Tehuacán (México), confirman la importancia de las especies del género para las culturas originarias (Smith, 1967; Simpson, 1977; Rostworowski, 1981).

Además, los frutos de “mezquite” (*P. juliflora*) jugaron un importante rol en el desierto de Sonora (Norteamérica), donde las tribus de pobladores originarios elaboraban harina y masa con la pulpa seca o tostada de los lomentos maduros. Un tipo de torta durable, se preparaba secando la masa en forma de bolas (Meyer, 1984; Simpson, 1977). Actualmente, una pasta fermentada de semillas hervidas de *P. africana*, llamada “okpiye”, se prepara en Nigeria (Achi, 1992).

En Argentina, su utilización se remonta a las culturas prehispánicas. En la provincia de Santiago del Estero los pobladores locales preparaban “patay”, “aloja” y “añapa” (Burkart, 1952, Ochoa de Cornelli, 1996). Alonso de Ovalle (1646), relata que en la provincia de Mendoza, los indios huarpes, al no disponer de trigo, maíz o arroz para elaborar el pan, utilizaban algarroba que cosechaban y almacenaban (*apud* Rusconi, 1958). En la provincia de Chaco, los tobas, preparaban harina con las algarrobas (frutos) de *P. alba* y *P. nigra*, dejándolas secar y moliéndolas en un mortero para consumirlas disuelta en agua (Martínez Crovetto, 1964).

En cuanto a la elaboración de bebidas, Bibar (1558), relata, que en el valle de Atacama (Chile) los nativos preparaban una bebida fermentada con

algarroba molida y cocida en agua (*apud* Roig, 1993b). Para la región de Cuyo, el Abate Americano (1787), describe el uso de *P. chilensis* para elaborar “aloja”. Guinnard (1856) y Claraz (1865) mencionan que los indios mapuches, cosechaban y aplastaban algarrobas entre dos piedras y las introducían en bolsas de cuero llenas de agua para obtener una bebida que dejaban fermentar durante varios días (*apud* Prates, 2009). Métraux (1944), reporta que en el Chaco los frutos eran machacados en un mortero y mezclados con agua caliente en un tronco ahuecado de palo borracho (*Ceiba speciosa*) o en un recipiente improvisado de cuero de vaca o cabra.

A pesar del alto contenido proteico de las semillas, el uso industrial de los frutos, para consumo humano o animal, es prácticamente inexistente (Barra de la Rosa, *et al.*, 2006). Numerosos investigadores, en Argentina, han encarado estudios sobre explotación, germinación, cultivo, protección, maduración y cosecha de diferentes especies creciendo en áreas desérticas (Roig, 1993b). Aisladas investigaciones han analizado el tratamiento y conservación post cosecha de los frutos de *P. ruscifolia* en la provincia de Formosa (Freyre *et al.*, 2003). En particular, Prokopiuk (2004), ha ensayado procesos controlados de molienda para la obtención de sustitutos de café a partir de frutos de *P. alba*. Al respecto, Hieronymus (1881) ya cita que las semillas tostadas podrían reemplazar al café.

En Perú, Grados *et al.* (1996), a partir de la molienda de frutos de especies nativas del género, han analizado las diferentes fracciones obtenidas para la elaboración de variados subproductos (sustituto de café, alcohol por fermentación, harina, productos de panadería, aditivos para comidas dietéticas, gomas).

1.2. Caracterización del fruto y las semillas de *Prosopis* L.

Desde el punto de vista botánico, el fruto, es una legumbre indehiscente, denominada lomento drupáceo. Proviene de un gineceo unicarpelar (Burkart, 1976) y según las especies, varía en forma, tamaño y color. Es valorado por el alto contenido de proteínas y polisacáridos (Freyre *et al.*, 2003).

El pericarpo consta de epicarpo, mesocarpo y endocarpo. El epicarpo, con fibras, es de color amarillo-pajizo, café-rojizo o plumizo, a veces presenta manchas violáceas. En sección transversal, está algo comprimido, delgado y

constituido por epidermis uniestratificada, (2 - 3) capas de células subepidérmicas y haces vasculares colaterales con refuerzo de paquetes de fibras. El mesocarpo carnoso, fibroso o azucarado, es comestible y nutritivo en algunas especies. Está constituido por un parénquima pluriestratificado más o menos desarrollado. El endocarpo, coriáceo a óseo, está dividido en segmentos uniseminados cerrados, en ocasiones difíciles de abrir. En sección transversal, exhibe fibras lignificadas, con un patrón de distribución cruzado. En *P. alba* y *P. chilensis* el endocarpo es delgado (0,15 – 0,25 mm), en *P. nigra* y *P. flexuosa*, más grueso (0,6 – 0,8 mm) y en *P. kuntzei*, muy grueso (1,2 – 1,5 mm). Es duro, impermeable al agua y debe ser removido para que ocurra la germinación (Trobok, 1985; Solbrig y Cantino, 1975, Cosiansi *et al.*, 2005).

Las semillas, provienen de óvulos anátropos con placentación submarginal (Roth, 1977). Son generalmente ovoides, elípticas, oblongo-elípticas, más o menos cuadrangulares o a veces irregulares, duras, comprimidas, color castaño claro, café-amarillentas a rojizas, más o menos brillantes y de textura lisa. Su extracción del fruto es difícil. Presentan un extremo a menudo aguzado, donde se ubican el hilo, la micrópila y el rafe y un extremo calazal ancho (Font Quer, 1989). El hilo es pequeño, circular u ovalado, superficial o hundido, apical o subapical. La micrópila y el hilo se encuentran muy próximos. El rafe es de forma umbonada, surco o línea, a menudo blanquecino (Burkart, 1940 –1952; Boelcke, 1946; Palacios y Bravo, 1974). Sobre la testa va impresa la línea fisural (pleurograma o ecusson), característica de las Mimosoideae. Posee forma de herradura, con sus brazos dirigidos hacia el extremo hilar y alrededor de un umbón ubicado en el centro de las caras. La sección transversal de la semilla es comprimida, elíptica a anchamente elíptico-transversa. El tegumento seminal (testa y tegmen), es duro. La testa (externa) está compuesta por macroesclereidas y osteoesclereidas. El tegmen (interno) consta de unas pocas capas de células. Hacia el interior, el endosperma, generalmente duro, mucilaginoso, córneo o vítreo, está rodeando a los cotiledones. El eje del embrión, de 3 mm de longitud aproximadamente, es recto. Los cotiledones son aplanados, plano-convexos, redondeados o elípticos, amarillos y con la base sagitada de aproximadamente 5 mm de longitud (Corner, 1951). Las semillas presentan alto contenido de

proteínas, en particular, Bravo *et al.* (1994) citan en *P. pallida* 65 gramos de proteína por kilogramo de semillas.

❖ Insectos que afectan los frutos

Los insectos son los únicos invertebrados conocidos que se alimentan de frutos y semillas de *Prosopis* L. Las infestaciones pueden producirse sobre las inflorescencias, afectando indirectamente la producción de frutos. Los insectos, especialmente diversas especies de la familia Bruchidae, “brúquidos”, se alimentan del mesocarpo de frutos inmaduros, del endocarpo y de las semillas. Para preservar la calidad y sanidad de la semilla, es importante el control eficaz pre y postcosecha.

1.3. El “algarrobo” como alimento

Los frutos han sido y son utilizados como alimento por la palatabilidad del mesocarpo dulce, el alto contenido proteico de las semillas y el aporte de carbohidratos (Burkart, 1976; Prokopiuk, 2004). En general, el fruto entero contiene: 11 – 17 % de proteínas y 13 – 34 % de azúcares, con la proteína concentrada en las semillas (26 – 37 % de la semilla) y los azúcares en el pericarpo (Meyer *et al.*, 1986).

Actualmente, entre los productos derivados existentes en el mercado, figuran: un sustituto del café (granos o polvo soluble instantáneo), una melaza, alcohol (obtenida por fermentación), productos de panadería y snacks, combustible (carbón vegetal) y gomas (Figueiredo, 1975, 1990; Felker y Bandurski, 1977; del Valle *et al.*, 1983; Meyer, 1984; Bravo *et al.*, 1994; Frías - Hernández *et al.*, 1994; Grados, 1996; Galindo - Almanza *et al.*, 2000; Maldonado - Aguirre *et al.*, 2000; Freyre *et al.*, 2001; Arenas, 2003).

En el Departamento de Cochabamba (Bolivia), el consumo de frutos constituye el 54% de la alimentación humana, comprobándose que el complemento dietario de cereales (maíz) y algarroba favorece notablemente los índices biológicos de los consumidores (Loma Mercado *et al.*, 2011).

En Argentina, aún hoy, algunas comunidades locales en Chaco y Formosa, continúan utilizándolo como recurso para la alimentación (Burkart, 1952). En general, los frutos maduran rápidamente y caen; su período de aprovechamiento es muy corto, aproximadamente un mes. El “patay”,

elaborado en ese período, una vez seco o tostado, asegura el mantenimiento del alimento por mucho tiempo. Para la elaboración de “patay”, los frutos maduros y secos se machacan en un mortero (de piedra o de madera), luego se ciernen para dejar sólo la harina y eliminar el resto, incluidas las semillas. Con esta harina y agua se elabora una pasta, se le da forma de panes que se secan, al horno o al rescoldo. Así, pueden conservarse bien en climas semiáridos (Roig y Dalmasso, 1986). En Catamarca, San Luis, Santiago del Estero y La Rioja, el “patay” es un alimento muy popular (Burkart, 1952). Las especies más utilizadas para su elaboración son: *P. alba*, *P. nigra* y *P. flexuosa*, también se usan *P. elata*, *P. ruscifolia*, *P. vinalillo* (Arenas, 1981), y *P. torquata* (Ragonese y Martínez Crovetto, 1947). Escudero y Herraiz (1943) encontraron que el patay, además del alto contenido de azúcares (30 – 40 %), posee un alto contenido de calcio asimilable (0,138 - 0,217 %), de tiamina y de riboflavina.

En La Rioja llaman “chuningo” a una variedad de “patay”, que se prepara con los frutos molidos y cernidos, maíz y agua para ser consumida sin hornear.

En Santiago del Estero elaboran bollitos a partir de pasta de mistol (*Zizyphus mistol*), rodeada por harina de algarrobo llamada “bolanchao” (Burkart, 1952).

Las bebidas con un alto contenido de alcohol como la chicha o aloja se elaboran por fermentación de las vainas en agua. Las especies más utilizadas en Argentina para la elaboración de “aloja” son *P. alba* y *P. chilensis* (Burkart, 1952), también *P. ruscifolia* (Martínez Crovetto, 1964), *P. hassleri* y *P. torquata* (Ragonese y Martínez Crovetto, 1947), *P. elata* y *P. vinalillo* (Arenas, 1981). En la provincia de Salta se prepara con frutos de *P. alba* según el siguiente protocolo: una parte de algarroba molida en cuatro partes de agua. Se machacan los frutos en un mortero, luego se vierten en una tinaja agregando agua. Se tapa, se deja fermentar y transcurridas 24 horas comienza la formación de burbujas. A las 48 h, se saca la parte sólida estrujándola entre las manos y se agrega una mayor cantidad de algarroba. Esta bebida tiene un gusto acidulado agradable, pero debe ser consumida enseguida, no puede conservarse (Burkart, 1952).

La “añapa”, una bebida no fermentada, dulce y refrescante, se prepara a partir de frutos molidos colocados en agua fría (Cornelli, 1996). En Argentina y

Chile, se utilizan las mismas especies que para la elaboración de la “aloja” (Roig, 1993b; Habit, 1981). En México y Centroamérica, esta bebida se conoce como “mesquitatole” (Allen y Allen, 1981) y en Perú, “yusipín (Cruz, 1999).

Prokopiuk (2004), obtuvo un sucedáneo de café a partir de frutos de *P. alba* tostados a 160° C durante 60 minutos. El aroma de la infusión resultante, presentó matices de tostado, miel, hierba y chocolate. Resulta parecido al del café genuino y tuvo aceptación entre los consumidores. Recientemente, algunas pequeñas fábricas en Perú comenzaron a elaborar sucedáneos de café o “café de algarroba” (Cruz, 1999). En la provincia de Formosa (Argentina), este producto es fabricado y comercializado por pobladores originarios de la etnia wichí.

En Perú se prepara la “algarrobina”, un almíbar o extracto concentrado azucarado que se obtiene a partir de algarrobas maduras enteras o partidas, hervidas en agua durante dos horas, prensadas, filtradas y concentradas por evaporación. El resultado es un producto viscoso, de color marrón brillante que se comercializa en botellas de vidrio o potes de plástico para ser usado como endulzante y saborizante. Es revitalizante y fortificante para niños y ancianos. Se utiliza en repostería y como aperitivo, mezclándolo con pisco y leche (Cruz, 1999, Prokopiuk, 2004). En Argentina, este producto se denomina “arropo” y se prepara a partir de algarrobas maduras de *P. nigra* (Martínez Crovetto, 1964), *P. torquata* y *P. hassleri* (Ragonese y Martínez Crovetto, 1947).

Los galactomananos, existen en cantidades considerables en el endosperma de las semillas de los algarrobos. Debido a sus interesantes propiedades físico-químicas, la industria de alimentos registra una creciente demanda. En general, son utilizados como aditivos en alimentos, cosméticos, pinturas para papel, en la industria textil, petrolera, farmacéutica y en explosivos. (Gauter, *et al.* 1999; Vilela, 2003;). Según Ibañez (2003), los resultados obtenidos del endosperma de la semilla de *P. flexuosa*, revelan la presencia de galactosa (27.3 % p/p) y manosa (56.3 % p/p) como los mayores componentes y en menor cantidad glucosa (13.9 % p/p) y arabinosa (2.5 % p/p). El galactomanano es el polisacárido principal en el endosperma de la semilla de *P. flexuosa* (83.6 % p/p de galactosa más manosa), de acuerdo con éstos análisis, la relación manosa:galactosa es de 2,1 más próxima a la de goma guar. Para *P. pallida* y *P. juliflora* 1,45 y 1,59, respectivamente.

Diferentes especies de *Prosopis* L. exudan una goma soluble en agua que ha sido utilizada como sustituto de la goma arábica (Cruz, 1999). En América, y desde un punto de vista comercial, la mayor fuente de goma de algarrobo proviene de los exudados de *P. glandulosa* (Burkart, 1976).

Hernández-Tinoco *et al.* (2004), proponen la posibilidad de elaborar quesos con bajo contenido de grasa, utilizando los hidrocoloides naturales de la goma de las semillas de especies del género.

Por otra parte, el azúcar de los frutos, básicamente sacarosa, no necesita insulina para metabolizarse. Los productos elaborados con frutos de algarrobo pueden incorporarse a la dieta de diabéticos (www.livesuperfoods.com).

Como forraje, en zonas áridas y semiáridas, la importancia de los frutos, radica en su valor nutritivo, por ejemplo, para ser utilizado durante la época de invierno como suplemento en la alimentación de animales domésticos. Carballo *et al.*, (*apud* Karlin, 1979), sugieren que los productores de la zona cabrera del Norte de la provincia de Córdoba, podrían utilizar frutos de algarrobo (*P. nigra*), con valor nutritivo similar al maíz, para alimentar cabras gestantes y durante la lactancia. Con un recurso de bajo costo, se lograría mejorar el sistema de producción caprina, evitar la mortalidad de las crías y el bajo peso al nacer o al momento de la venta. Una propuesta para afianzar el desarrollo y hacerlo sustentable. Una ventaja, es que los frutos podrían cosecharse de Diciembre a Febrero y luego almacenarlos para ser usados en temporadas de escasez (Karlin, 1979). El fruto de *P. chilensis* contiene un porcentaje de proteínas mayor que el maíz, Escobar *et al.* (2009) proponen utilizarlo como principal suplemento forrajero en la zona del Chaco árido.

Las moliendas que incluyen el fruto (pericarpo) y las semillas, registran alto contenido de proteínas. Este producto mejora la dieta de la población rural, tiene un alto contenido energético (carbohidratos), asegura el aporte de proteínas (8,5 %), fibras (11,5 %) y sales minerales, en especial calcio y hierro (INCUP, 1997). Esta harina responde a los requerimientos recomendados por la FAO (FAO/WHO, 1973).

Finalmente, en harinas mezcla (leguminosas / cereales) se incrementa el nivel de aminoácidos. Las leguminosas son una excelente fuente de lisina y los cereales, de aminoácidos azufrados (Escobar *et al.*, 2009).

1.4. Composición química y valoración nutricional

En cuanto a la composición química y valoración nutricional de los frutos, Freyre *et al.* (2003), reportan que los valores de proteína bruta, expresados en gramos por kilogramo en base seca, en *P. ruscifolia* (127 g/kg) son semejantes a los de *P. juliflora* (147 g/kg.) y *P. glandulosa* (116 g/kg.). Del Valle *et al.* (1987) y Pak *et al.* (1977), mencionan valores similares proteína (11 %), fibra (29 %); cenizas (4.6 %) y grasa (1,7 %), para *P. glandulosa* y *P. velutina*, en América del Norte y *P. tamarugo* en Chile. Espinoza (1987), Saenz *et al.* (1987) y Saura *et al.* (1991) determinan: proteína (9 – 12 %), fibra (14 – 23 %); ceniza (3 – 5 %) y grasa (<1,7 %) para *P. pallida* y *P. juliflora* en Perú. Figueiredo (1975) y Marangoni y Alli (1988), reportan mayor porcentaje de fibra y grasa en frutos de *P. juliflora* en Ecuador y Brasil. Según Galera *et al.* (1992), la composición química de los frutos de *P. alba* var. *panta* (provincia de Córdoba) es: humedad (10 %); materia seca (89,93 %); cenizas (4,8 %); fibra (12,49 %); proteínas (11,70 %); hidratos de carbono (66,69 %) y lípidos (4,32 %); no se detecta almidón y ácidos grasos trans. Silva *et al.* (2000) citan el valor nutricional del fruto de *P. chilensis* al momento de cosecha: materia grasa (3,02 %); cenizas (3,37 %), proteínas, (11,48 %), fibra detergente neutra (23,14 %), digestibilidad (71,18 %), fibra detergente ácida (19,34 %).

Los valores para la harina de los frutos de *P. alba* creciendo en la provincia de Formosa son: humedad (4 %); cenizas (3,4 %); proteínas (7,4 %); materia grasa (1,8 %); fibra (21,2 %); hidratos de carbono (62,2 %); ácidos grasos saturados (0,4 %); ácidos grasos monoinsaturados (0,4 %); ácidos grasos polinsaturado (0,5 %); sodio (6 %); no se detecta almidón y ácidos grasos trans (INTI, 2006).

Según Prokopiuk *et al.* (2000), los valores en frutos de *P. alba*, molidos y tostados a 60° C por 60 minutos, expresados en gramos por kilogramo de masa seca, son: proteínas (71,7); grasa (21,7); cenizas (31,3); carbohidratos totales (849,6); azúcares totales (591,4); azúcares reductores (27,6), fibra cruda (24,3); fibra dietética insoluble (200,9); fibra dietética soluble (64,7); fibra dietética total (265,6), taninos condensables (5,7); polifenoles solubles totales (0,06); y presencia de Ca (1274,5 mg/k), Fe (450 mg/k), K (8920 mg/k), Mg (967 mg/k).

Bravo *et al.* (1994) analizando los azúcares en la pulpa, determinan en *P. pallida*, un 50 % de azúcares solubles, siendo la sacarosa (95 %), el componente mayoritario de esta fracción. Glucosa, fructosa galactosa y arabinosa se registran en menor proporción. Los valores de proteínas y azúcares hallados en *P. alba* son: 9,6 % y 35 %, respectivamente; en *P. nigra*: 10,4 % y 37,5 %, respectivamente y en *P. velutina* 18,6 % y 25,7 %, respectivamente (Oduol *et al.*, 1986).

Freyre *et al.* (2003) reportan para el contenido de proteína en la semilla de las especies del género, 312 - 393 gramos por kilogramo de semilla. Cruz *et al.* (1992), citan que los cotiledones de las mismas contienen alrededor del 65 % de proteína. En semilla de *P. flexuosa*, Ibáñez (2003) reporta: cenizas (3,2 %); proteínas (31,2 %); lípidos (3,8 %); fibra (8,9 %); extracto no nitrogenado incluyendo fibras (54,1 %). Escobar *et al.* (2009) concluyen que la aplicación de tratamiento térmico (húmedo o seco) incrementa la calidad biológica de la proteína del cotiledón (medida como razón proteica neta) de 1,74 a 2,56 y 2,59, respectivamente. En cotiledones de *P. chilensis*, citan los siguientes valores: proteínas (63,6 %), cenizas (4,3 %), lípidos (10,2 %), fibra (4,2 %), extracto no nitrogenado (17,7 %) lisina disponible (62,4 mg/g proteína).

Ensayos realizados para la elaboración de galletas tipo crackers mostraron que la sustitución de hasta un 30% de la harina de trigo por harina de algarrobo, incrementa significativamente el valor nutricional del producto (Freyre *et al.*, 2003).

Estudios sobre la calidad forrajera indican que los frutos molidos poseen una digestibilidad equivalente a la alfalfa. Son ricos en proteínas y carbohidratos (Felker, 1979). Los análisis reportan que contienen: materia grasa (1,3 - 3,5 %), proteína (9 - 17 %), fibra cruda (22 - 30 %), cenizas (3 - 4,9 %), carbohidratos (40 - 55 %) (Becker *et al.*, 1980; Zolfaghari *et al.*, 1986; Silva *et al.*, 1988; Ibrahim, 1988; Pak *et al.*, 1997). Se caracterizan por su alta digestibilidad (57 - 66 %) (Díaz y Karlin, 1983; Corfo, 1985), observándose variación de la calidad forrajera entre procedencias, aún dentro de la misma especie (Díaz y Karlin, 1988).

1.5. Principios activos y factores antinutricionales

❖ Proteínas

En la semilla la concentración relativa de sustancias de reserva (lípidos, proteínas y carbohidratos) varía considerablemente entre especies. Las proteínas de reserva se acumulan en cuerpos proteicos, ovales o esféricos, rodeados de una membrana. La proteína es hidrolizada en aminoácidos por enzimas proteolíticas.

En general, los cuerpos proteicos varían en la estructura interna y tamaño. Se han reportado diámetros desde 1,5 - 8 µm hasta 0,1 - 22 µm. En Angiospermas, el más simple de los cuerpos proteicos, denominado tipo 1, tiene una matriz granular u homogénea sin subunidades; el tipo 2, está constituido por cuerpos proteicos con subunidad globoide y el tipo 3, con subunidades globoide y cristaloides (Ashton, 1976).

El cristaloides es un depósito de proteína cristalina, puede ser esférico, angular. El globoide, consiste en compuestos de reserva fosfatados, cuyo componente mayoritario es la fitina, una sal insoluble de Ca, Mg de ácido inositol hexafosfórico. Es frágil, no tolera los fijadores o resinas utilizados en microscopía electrónica y tiende a destruirse, generando un área vacía o con pequeños fragmentos. Son cuerpos regulares, redondeados que refractan intensamente la luz. Entre los elementos inorgánicos asociados con la fitina se encuentra P, Ca, Mg, K, Mn, Cu, Na, S y Cl. En la matriz proteica se han encontrado fitatos de potasio solubles (Ashton, 1976).

Las proteínas solubles en agua son clasificadas como **albúminas**; las insolubles en agua, pero solubles en soluciones salinas diluidas, como **globulinas**; las solubles en soluciones débiles ácidas o básicas, **glutelinas** y las solubles en etanol 70 - 80 %, **prolaminas**. En la mayoría de las semillas, excepto en gramíneas, la principal proteína de reserva son las globulinas. En los cereales, existen albúminas y globulinas, excepto en el arroz, dado que el 40 - 60 % de las proteínas consiste en prolaminas y el 20 - 40 % en glutelinas.

Las proteínas de reserva en las semillas de las leguminosas son albúminas y globulinas. Las globulinas son dominantes 50 - 90 %. Según el coeficiente de sedimentación se distinguen: globulinas 7S (vicilina, 7,1S - 8,7S) y globulinas 11S (legumina, 10,1S - 14S). La proporción entre las globulinas

11S a 7S varía entre cultivares (Utsumi *et al.*, 1997). En el género *Prosopis* L. no se detectan prolaminas y glutaminas (Osborne *et al.*, 1998; Buchanan *et al.*, 2006; INAL, 2009).

Las leguminas 11S tienen una masa molecular de 350 - 400 kDa. La holoproteína es un hexámero de seis pares de subunidades de 60 - 65 kDa. Cada par de subunidades consta de un polipéptido ácido de 40 kDa, con 278 aminoácidos y un polipéptido básico de 20 kDa, con 180 aminoácidos. Ambos polipéptidos, unidos por puente disulfuro, conforman pares de subunidades. Como varias familias de genes pueden originar distintos precursores de leguminas, se han identificado distintos polipéptidos de leguminas (polipéptidos 4 - 5 ácidos (α) y 5 - 6 básicos (β). El tamaño de estos polipéptidos abarca entre 38 - 40 kDa para los polipéptidos con carga negativa (ácidos) y de 19 - 22 kDa para los de carga positiva (básicos). Altas concentraciones de soluciones salinas, rompen las uniones electrostáticas no-covalentes, que mantienen unidas entre sí a las seis subunidades de 60 kDa. El agente reductor, β - mercaptoetanol (β -ME) rompe los puentes disulfuro (Buchanan *et al.*, 2006; Barac *et al.*, 2010).

Observaciones con microscopio electrónico de barrido del contenido proteico crudo de la harina de *Phaseolus vulgaris* "poroto" (Fabaceae), albúminas, globulinas, concentrados proteicos y aislados proteicos indican que las albúminas presentan estructuras en forma de varillas con una superficie topográfica relativamente lisa, mientras que las globulinas presentan distintas formas y tamaños con superficies relativamente más rugosas que las albúminas (Sathe *et al.*, 1981).

Los aminoácidos de la proteína de los cotiledones aportan la mayor parte del nitrógeno. Los frutos de las especies del género *Prosopis* L. son considerados importantes recursos alimentarios con un contenido proteico 11 - 17 %, teniendo como aminoácidos limitantes tirosina y metionina/cisteína (González Galán *et al.*, 2008). Grados y Cruz (1996) reportan la presencia de los siguientes aminoácidos en los cotiledones de *P. pallida*: ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina (57,812 g/100 g de materia original). Los mismos aminoácidos, en distintas proporciones, se presentan en los frutos de *P. chilensis* y *P. tamarugo*

(Astudillo *et al.*, 2000). Lo mencionado confirma que los frutos de las especies del género constituyen una fuente de aminoácidos esenciales.

❖ Azúcares

La fracción mayoritaria de azúcares se detecta en la pulpa de los frutos. *P. velutina* registra un porcentaje muy alto de sacarosa (92 %) y una muy baja proporción de fructosa (5 %) y glucosa (3 %) (Meyer *et al.*, 1986).

La pulpa del fruto de *P. alba*, tiene una cantidad de azúcares totales equivalente a 549,14 g/kg de materia en base seca, con una cantidad alta de azúcares reductores (27,6 g/kg). Se caracteriza, además, por la presencia de xilosa, fructosa, glucosa y sacarosa, está última en proporción mayoritaria (Prokopiuk *et al.*, 2000).

En cuanto a la composición de polisacáridos en el endosperma se registran, en *P. pallida*: manosa (46,28 %) galactosa (33,97 %), arabinosa (1,56 %) glucosa (0,93 %), xilosa (0,19 %) (Grados y Cruz, 1996). En *P. velutina*: ramnosa (0,23 %) manosa (56,47 %) galactosa (36,24 %), arabinosa (4,18 %) glucosa (0,59 %), xilosa (1,96 %) y otros (0,32 %). Los altos contenidos de proteína soluble y minerales interfieren con la cristalización y purificación de la sacarosa. Este hecho, si bien permite preparar un azúcar de algarrobo "especial" o melaza, impide competir directamente con el azúcar refinado (Meyer *et al.*, 1986).

El embrión aporta 4,5 % de azúcares libres.

❖ Fibra

La fibra alimentaria (fibra dietética) es un componente importante en alimentos de origen vegetal por sus propiedades para el organismo humano (Grados y Cruz, 1996).

La fibra cruda indica la porción no digerible de los alimentos. Prokopiuk *et al.* (2000) indican los siguientes valores en *P. alba*: para fibra dietética total (FDT): 265,6 g/kg, fibra dietética insoluble (FDI): 200,9 g/kg y fibra dietética solubles (FDS): 64,7 g/kg. En *P. flexuosa* y *P. chilensis* los valores de fibra cruda resultaron similares (8,9 % p/p) (Vásquez *et al.*, 1985; Ibáñez, 2003).

❖ Grasas

En el género *Prosopis* L, al igual que las proteínas, la mayor cantidad de grasas se encuentra en el embrión.

En particular, *P. velutina*, registra un 8 % de grasas representadas por ácidos linoleico (46,7 %), oleico (24,5 %), palmítico (13,7 %), linolénico (4,6 %), esteárico (4,6 %) y mirístico (1,1 %) (Meyer *et al.*, 1986).

❖ Taninos

Los taninos vegetales son polifenoles y están presentes en una amplia cantidad de alimentos y bebidas (té, vino tinto, frutos y cereales). Se clasifican en polifenoles condensados (flavonoides) y polifenoles hidrolizables (ésteres de la glucosa y el ácido gálico o elágico).

Con gusto amargo, provocan la sensación oral de astringencia, aspereza y sequedad. La astringencia se debe a interacciones entre los polifenoles y principalmente las proteínas ricas en prolina de la saliva (Charlton, 2002).

Los taninos tienen efectos dañinos en animales: secuestran el hierro de los alimentos e inhiben enzimas digestivas. Las proteínas de la saliva, ricas en prolina, pueden unirse a los polifenoles y precipitarlos, evitando de esta forma, el efecto gastrointestinal negativo en los consumidores (Charlton, 2002; von Staszewski, 2011).

Entre los factores antinutricionales (tripsina, ácido fítico, taninos), los taninos son comunes en las semillas de leguminosas y se han hallado en cantidades considerables en algunas especies del género *Prosopis* L. Dada la baja proporción de taninos en frutos de *P. alba*, son insignificantes los efectos adversos mencionados de los taninos condensados (5,7 g/kg base seca) y polifenoles solubles totales (0,06 g/kg base seca). Por lo tanto su presencia no constituye un factor limitante para ser usado en la elaboración de alimentos (Prokopiuk *et al.*, 2000).

En cuanto a los frutos de *P. chilensis*, la bibliografía registra valores 0,40 – 2,92 % de compuestos antinutricionales (polifenoles, nitratos, fitatos) (González Galán *et al.*, 2008).

1.6. Producción y cosecha de algarrobos

Los frutos de *P. pallida* y *P. limensis*, en Perú, fructifican dos veces al año: en Diciembre - Marzo (más abundante) y en Junio – Julio. La productividad depende principalmente de la edad del árbol y de la calidad del suelo. Crecen naturalmente en zonas desérticas, por lo tanto los frutos no son cosechados sino colectados por aquellas personas que los necesitan. Algunos árboles llegan a producir hasta 300 kg de frutos por año y son recolectados del suelo por mujeres y niños de muy bajos recursos como actividad paralela a sus tareas agrícolas (Grados y Cruz, 1996).

En Argentina, la fructificación de *P. alba* ocurre en verano. Los árboles, producen frutos a partir del quinto año de vida y según la edad de los ejemplares, entre 5 - 40 kilogramos. La producción de frutos puede verse afectada por heladas tardías o por lluvias que dañan flores o frutos. En la provincia fitogeográfica del Chaco, la mayor producción de frutos proviene de los bosques nativos. La cosecha es realizada manualmente, cuando los frutos espontáneamente caen al suelo para ser colectados por mujeres, niños o la familia. (Saravia, 1995; Felker, 1999; Prokopiuk, 2004). Los frutos de *P. chilensis* también maduran en verano y son utilizados, en muchos casos, por los pobladores locales para su alimentación y desaprovechados por los animales, dada la gran oferta herbácea (Burkart, 1952; Díaz y Karlin, 1988). Otro método de recolección es barrer los frutos del suelo con una escoba de alambre, se amontonan, se juntan en baldes de 20 litros y luego se colocan en bolsas de malla de plástico (plastillera) para llevarlos a la sala de procesamiento (Cosiansi *et al.*, 2005).

El almacenamiento de los frutos se realiza según técnicas tradicionales, en trojas, en ramadas (aprovechando la horqueta de un árbol) o en plataformas elevadas (techos). Estos métodos de conservación son precarios y sólo dan resultados en lugares con bajas precipitaciones (Díaz y Karlin, 1988).

Durante el almacenamiento, es muy importante preservar los frutos del ataque de insectos que se alimentan exclusivamente de la semilla, especialmente los pertenecientes a la familia Bruchidae (Kingsolver *et al.*, 1977; Aristóbulo, 1983; Díaz y Karlin, 1983; Mazzuferi *et al.*, 1994; Mazzuferi, 2000; Mazzuferi y Conles, 2005). El control postcosecha de estos insectos, debería evitar el uso de insecticidas comerciales, por ser tóxicos y peligrosos

de manipular. Los pobladores de las comunidades locales utilizan, con excelentes resultados, plantas con propiedades insectífugas como el “atamisqui” (*Capparis atamisquea* Kuntze), abundante en el Chaco árido y la “albahaca” (*Ocimum basilicum* L.) (Karlin *et al.*, 1994; Sekulovic *et al.*, 1996; Olson *et al.*, 1997).

Dada la importancia de la etapa de molienda en la transformación del fruto de algarrobo, es necesario encontrar métodos de obtención de harinas que preserven las cualidades del producto original (Roig, 1993; Caparelli, 2007).

Durante los últimos quince años se han llevado a cabo investigaciones, con el fin de obtener harinas a escala industrial utilizando técnicas de molienda seca (Bravo *et al.*, 1994; Grados y Cruz, 1996). La baja eficiencia del proceso de molienda ha limitado el uso del producto. Uno de los factores críticos es el alto contenido de azúcar de los frutos, por lo cual es necesario secarlos hasta niveles cercanos al 6 % de humedad en base seca. Los bajos niveles de humedad de procesamiento son requeridos para asegurar el correcto funcionamiento del molino (Saunders *et al.*, 1986).

Grados y Cruz (1996) reportan un método de molienda en múltiples etapas que incluye el secado previo de frutos de *P. pallida*, la molienda, la separación y el análisis de las diferentes fracciones o subproductos. Estos autores no incorporan las semillas para la obtención de la harina.

Definir métodos seguros de cosecha de frutos, establecer un procedimiento de limpieza y acondicionamiento previo de los mismos y diseñar un proceso de molienda de alto rendimiento para la obtención de harina enriquecida con proteínas, es una propuesta para contribuir al desarrollo de las comunidades locales.

1.7. Secado de las vainas de algarrobo

El secado es uno de los métodos más antiguos e importantes utilizados por el hombre para la conservación de los alimentos. El principal objetivo es reducir el nivel del agua de los productos para evitar el deterioro y prolongar su vida útil. También tiene la ventaja de reducir el volumen y el peso de los alimentos, minimizando el costo del envasado, almacenamiento y transporte (Kaptso *et al.*, 2007). En esta investigación, el secado también fue utilizado

como un proceso para mejorar la capacidad de molienda y conservar las características físicas y las propiedades nutricionales del producto.

El secado de los frutos de algarrobo interesa como método de preservación para evitar el deterioro del producto. El contenido de humedad de las vainas recién cosechadas, oscila entre 15 y 20 % de humedad (base seca) y propicia el desarrollo de la contaminación microbiológica. Además, el secado es una etapa del proceso imprescindible para la elaboración de la harina de algarrobo. La eficiencia del proceso de molienda del fruto depende del nivel de humedad y se ve favorecido con bajos rangos de humedad (4 - 6 %). Con un contenido mayor de humedad, los frutos se tornan flexibles y el azúcar presente resulta pegajoso (higroscópica) impidiendo la molienda (Meyer *et al.*, 1986).

El método más antiguo involucraba el secado de los frutos al sol. Si bien este método, aún es utilizado por algunas poblaciones originarias en el norte, noreste y noroeste de Argentina, trae consigo ciertos inconvenientes derivados de la dependencia de las condiciones climáticas y de la dificultad para controlar la evolución del secado que transcurre bajo condiciones variables de intensidad de radiación solar, temperatura y humedad ambiente. Resulta un método factible, básicamente, en el caso de pequeñas producciones familiares o comunitarias de tipo artesanal (APCD - INCUPO, 2003).

La deshidratación de los frutos en secaderos tipo túnel de corriente de aire se ha difundido con el correr de los años por introducir una mejora considerable en el control de las condiciones de secado (Grados *et al.*, 1996; Prokopiuk, 2004). El principal beneficio de este método consiste en poder predecir el tiempo de secado requerido para deshidratar los frutos cosechados, a fin de reducir el contenido inicial de humedad hasta un nivel seguro para el almacenamiento y posterior procesamiento del producto. El control de las condiciones de secado y la posibilidad de la repetición del proceso, contribuye favorablemente a la obtención de lotes más homogéneos del producto seco.

Los antecedentes bibliográficos referidos al secado en corriente de aire de frutos de *Prosopis* L. bajo diversas condiciones, son bastante escasos (Bravo, *et al.*, 1994; Cruz, 1994; Grados y Cruz, 1996; Prokopiuk *et al.*, 2000; Barra de la Rosa, *et al.*, 2006).

Meyer *et al.* (1986) plantean secar los frutos antes de la molienda, con corriente de aire a 70° C y velocidad de aire de 250 m/min durante toda la noche, para alcanzar un contenido de humedad de 4%. Temperaturas de secado mayores a 75° C con escasa reducción en el tiempo de secado, producen un severo oscurecimiento de los frutos. Temperaturas por debajo de los 65° C, requieren tiempos de secado demasiado prolongados.

Prokopiuk *et al.* (2000) trabajando con frutos de *P. alba* colectados en el Chaco (Argentina) y con *P. pallida* procedente de Piura (Perú), realizan el secado de los mismos en estufa de convección forzada de aire, a 60° C de temperatura del aire de secado, durante 60 horas. Los autores comprueban que luego del secado el contenido de humedad de los frutos desciende desde 12 % a 6 % (base seca), siendo esta última la humedad adecuada para la molienda.

Un aspecto interesante es el efecto del incremento de la temperatura de secado sobre los componentes antinutricionales. Barra de la Rosa *et al.* (2006), utilizan frutos de *P. laevigata* para evaluar el contenido de taninos y del inhibidor de tripsina en frutos secados a 60° C y 70° C, hasta constancia de peso. Los autores reportan, para ambas temperaturas de secado, la ausencia de diferencias significativas en cuanto a contenido proteico y digestibilidad de componentes mencionados. Comprueban que el incremento de la temperatura provoca la disminución de ambos. Estos compuestos (taninos e inhibidor de tripsina) se consideran nutraceuticos a bajas concentraciones y antinutricionales a concentraciones mayores. Como ventaja adicional, el secado, al afectar compuestos termolábiles, mejora apreciablemente los aspectos nutricionales.

Para la fabricación de harina de cotiledones a partir de frutos de algarrobo (*P. chilensis*), Escobar *et al.* (2009) proponen secar los frutos completamente maduros en un secador de túnel con aire forzado a 60° C hasta una humedad residual de 8 % - 10 %, extraer manualmente las semillas y pelarlas con solución 0,75 % p/v de hidróxido de sodio. Luego tratan térmicamente los cotiledones con calor húmedo (relación cotiledón/agua de 1:3) a sobrepresión (1,57 atm) por 9 minutos para la inactivación de los compuestos antinutricionales termosensibles y los secan a 35° C hasta una humedad residual de 8 %. Luego, estos frutos son molidos en dos etapas: una

premolienda hasta una granulometría de 250 µm y una molienda fina hasta 150 µm.

Dada la importancia del fenómeno en relación a la calidad del producto, varios investigadores han estudiado la migración del agua, en estado líquido o como vapor, durante los procesos de hidratación, secado y/o almacenamiento de alimentos. Los alimentos e ingredientes estudiados comprenden un amplio espectro. Así, se han propuesto diferentes modelos, para predecir el comportamiento cinético durante la deshidratación de alimentos y se ha podido simular con éxito la relación entre el contenido de humedad y el tiempo de secado.

La estimación del tiempo de secado no es trivial en alimentos dado que además de la influencia de las condiciones de secado (temperatura, velocidad y humedad relativa del aire secante) debe tenerse en cuenta el tamaño y la forma del producto, así como también la estructura y composición del mismo. Existen modelos teóricos para predecir la evolución del secado en base a diferentes mecanismos de migración de agua, basados en los fenómenos de difusión y capilaridad. Estos modelos, que pueden aplicarse con éxito en sistemas homogéneos de forma y tamaño definidos, resultan ineficaces en el caso del secado de alimentos.

Por otro lado, los modelos empíricos y semi-empíricos, constituyen una herramienta práctica muy conveniente para el estudio de la cinética de deshidratación de alimentos. Diferentes ecuaciones exponenciales y no exponenciales han sido desarrolladas, programadas con la ayuda de las computadoras (software) y aplicadas con éxito, para simular el proceso de secado en variedad de productos alimenticios (Iglesias & Chrife, 1995; Turhan *et al.*, 2002; Sopade, *et al.*, 2005).

Entre los modelos exponenciales, se podrían citar aquellos propuestos por Page (1949), Henderson y Pabis (1961) y Henderson (1974).

Entre los modelos empíricos no exponenciales, se emplean los modelos de Pilosof – Boquet – Bartholomai (1985), Singh-Kulshrestha (1987) y Peleg (1988). Algunos de sus parámetros (humedad de equilibrio, constante de la velocidad) son de mucha importancia práctica en la cinética de deshidratación y pueden utilizarse indistintamente. A pesar de presentar diferentes fórmulas,

éstas pueden ser reacomodadas para demostrar que son matemáticamente equivalentes (Situ *et al.*, 2004).

Una de las más utilizadas, es la ecuación biparamétrica de Peleg (1988). Ha sido empleada para describir la cinética de hidratación y deshidratación en diferentes alimentos (Sopade *et al.*, 1992, 2007; López *et al.*, 1995; Abu-Ghannam & McKenna, 1997; Sopade & Kaimur, 1999; Maharaj & Sankat, 2000). En los trabajos mencionados se emplea el modelo para ajustar datos de hidratación provenientes de temperaturas de maceración, inferiores a la de gelatinización. En el caso particular de frutos de algarrobo, la bibliografía sobre modelado cinético es escasa o nula. Por consiguiente, resulta interesante aplicar la ecuación de Peleg en el estudio de la cinética de secado de los frutos de *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa* para: a) evaluar la capacidad de la ecuación de Peleg para simular la deshidratación de los frutos sometidos a distintas temperaturas (40°, 50°, 60° y 70° C), desde la humedad de cosecha hasta la humedad de equilibrio donde el perfil de las curvas de deshidratación alcanza un valor asintótico; b) determinar el efecto de la temperatura sobre los parámetros cinéticos.

Finalmente, la hidratación y deshidratación de alimentos son fenómenos ampliamente estudiados y constituyen factores de importancia para el procesado y almacenamiento de los mismos (Sopade *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que la cinética de secado depende de factores intrínsecos (especies, geometría, tamaño, grado de madurez) y extrínsecos (temperatura, velocidad del aire, humedad relativa del aire). Los modelos matemáticos de los procesos de deshidratación son imprescindibles para el diseño y optimización de operaciones en procesos alimentarios. En definitiva, se busca seleccionar modelos de fácil implementación y que no involucren un número elevado de parámetros (Kaptso *et al.*, 2008).

1.8. Moliendas generalidades.

Es un hecho reconocido que la demanda mundial por proteínas se ve incrementada constantemente. En numerosos países existe un mayor requerimiento de alimentos proteicos provenientes tanto de fuentes alimenticias convencionales como nuevas (Eltayeb *et al.*, 2011). Las deficiencias nutricionales en países en vías de desarrollo, ya sea por la ausencia de

proteína animal, como leche, huevos, carne, o por sus altos costos, han dado lugar a varias formas de malnutrición que abarcan desde la ceguera infantil hasta la muerte. Por este motivo se intensifica la búsqueda de alimentos proteicos no convencionales, especialmente de origen vegetal. Además, se trata de aprovechar los potenciales de las partes desechadas de los frutos utilizados en preparaciones convencionales (Aletor *et al.*, 2007). Tal es el caso de las semillas de algunas leguminosas. Por ejemplo, para obtener la harina de algarrobo, las semillas son descartadas debido a su dureza y la dificultad que generan durante la molienda, hecho que resta valor proteico al producto final. Existen pocos estudios sobre la molienda del fruto entero. En particular, Barra de la Rosa *et al.* (2006), analizan las propiedades de la harina de algarrobo, obtenida a partir de los frutos y las semillas de *P. laevigata* utilizando un molino a martillos comercial. Prokopiuk *et al.* (2000) emplean el mismo tipo de molino en la molienda de frutos de *P. alba* en Chaco (Argentina) y *P. pallida* en Piura (Perú) y, en ambos casos, separan la semilla para destinarla a otros usos.

En contraposición, se destaca el laborioso proceso realizado por Escobar *et al.* (2009) para obtener harina de cotiledón de *P. chilensis*. Los autores mencionan que una vez secos, los cotiledones se muelen primeramente con un molino de impacto y luego en un molino a cuchillas de laboratorio para obtener una segunda molienda más fina.

Resultan escasos los datos bibliográficos acerca del rendimiento de la harina del fruto completo (pericarpo y semillas). Se registran varias referencias sobre las moliendas con separación de semillas para ser utilizadas con otro fin (forestación, extracción de gomas, etc.).

La cantidad de harina de pericarpo y de semillas por kilogramo de fruto depende de la especie, del año y de la procedencia. En moliendas con separación de distintas fracciones, para la producción de harina a partir de los frutos de *P. pallida* (Piura, Perú), es necesario 1,5 kg de frutos para obtener 0,5 kg de harina. Se observa que cuanto más grande es el molino, mayor es la pérdida. Incluso, la pérdida es mayor si la molienda es mecánica en vez de manual. Mediante trilla manual de frutos de *P. flexuosa* (Córdoba, Argentina), se han obtenido 25 – 40 % del peso en harina de pericarpo, 7 – 14 % de semillas y 53 – 61 % de endocarpo. Las proporciones de semillas se reducen a 4 – 5 % si la trilla es mecánica por la resistencia mecánica del fruto. En *P. alba*,

con trilla mecánica, se han obtenido 40 – 50 % harina, 13 – 18 % de semillas y 37 – 42 % de encocarpo. En *P. caldenia*, se han producido 33 – 48 % de harina, 8 – 16 % de semillas y más de 40 % de endocarpo (Cosiansi *et al.*, 2005; Grados, com. pers., 2009).

1.8.1. Harinas

Es sabido que para la harina de trigo existe una clasificación específica en base a la granulometría que establece tres categorías o “grados” (Código Alimentario Argentino, 2010). Estos grados varían entre: a) harina de **GRADO I** que no muestra retención en el tamiz NOM-34 M (de 0,177 mm) y puede presentar hasta un máximo de 10 % de retención en el tamiz NOM-50-M (de 0,125 mm) y b) harina de **GRADO III** con un 73% como mínimo de retención de las fracciones de dos tamices: NOM-20-M y NOM-40-M de 0,297 y 0,149 mm, respectivamente.

Con respecto a las harinas integrales, en el Código Alimentario se cita la harina integral de centeno (Artículo 689 – Res. 711, 25.4.85) sin especificar su granulometría y la harina de Graham (Artículo 662 – Dec. 2370, 28.3.73) señalando su tipificación como gruesa, mediana o fina, sin establecer valores. En cuanto a la sémola de trigo pan, la granulometría permitida para su comercialización se encuentra entre los 450 y 900 µm (Artículo 666 – Dec. 2370, 28.3.73); el semolín, debe responder a valores entre 125 – 355 µm (Artículo 667 – Dec. 2370, 28.3.73) y el semolín de trigo Candeal, entre 100 – 250 µm; la sémola gruesa entre 475 – 1000 µm; la sémola fina, entre 250 – 450 µm y la sémola mezcla, 100 µm (Artículo 668 – Dec. 2370, 28.3.73 y Res. 2878, 28.9.79).

Sobre las harinas proteínicas de origen vegetal con especificación en la granulometría, el Código establece en el caso de la harina de soja que el 95 % debe pasar por el tamiz de 149 µm (Art. 1407 – Res. 126, 29.1.80) y la harina de chía debe presentar una granulometría entre 500 y 1000 µm (Art. 1407 bis (Res. Conj. 86/2009 SPReI y 711/2009 SAGPyA).

Si bien existen en el Código Alimentario Argentino referencias para harina de *P. alba* “algarrobo blanco” y *P. nigra* “algarrobo negro” distinguiendo entre harina de semilla y harina del fruto entero, la regulación no hace referencia a la granulometría. Según el texto del **Artículo 681** – (Resolución

Conjunta SPReI N°56/2010 y SAGyP N° 538/2010): “Con el nombre de **Harina de algarroba**, se entiende el producto de la **molienda de las semillas**, limpias, sanas y secas, del algarrobo blanco (*Prosopis alba* Griseb.) y/o algarrobo negro (*Prosopis nigra* (Grisebach) Hieronymus)”. La norma establece además que: “el producto estará libre de materias extrañas e impurezas y en perfecto estado de conservación. Su contenido en agua no será mayor de 10 % a 100° C - 105° C, y sus cenizas no excederán de 2,5 % a 500° C - 550° C. En el caso particular de harina tostada, el contenido de agua no deberá superar el 5 % a 100° C - 105° C.” En el texto del **Artículo 681 tris** – (Resolución Conjunta SPReI N°56/2010 y SAGyP N°538/2010) se lee: “Con el nombre de **Harina de fruto (vaina completa con sus semillas)** de algarrobo, se entiende el producto de la molienda de los frutos completos limpios, sanos y secos, del algarrobo blanco (*Prosopis alba* Griseb.) y/o algarrobo negro (*Prosopis nigra* (Grisebach) Hieronymus)”.

❖ Distribución de tamaño de partícula

El tamaño y la distribución de las partículas en los procesos de molienda es fundamental para determinar las propiedades de los polvos obtenidos y realizar su caracterización. Por lo tanto, resulta muy importante contar con estudios sobre el efecto de la molienda en la granulometría.

En el caso de las harinas, no existe un único tamaño de partícula. Por el contrario, como en otros polvos industriales, se tiene una población heterogénea de partículas. Para describir la distribución de tamaño de partícula (DTP) se utilizan **curvas de frecuencia de la distribución** (Figura 1) o **curvas acumulativas** (Figura 2).

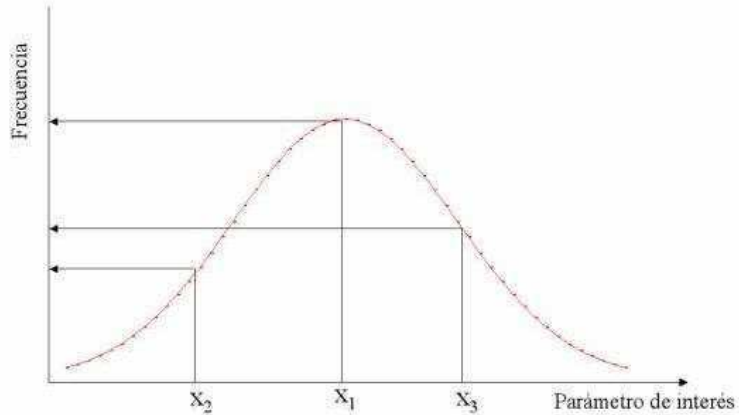


Figura 1. Curva de frecuencia de la distribución de tamaño de partículas.

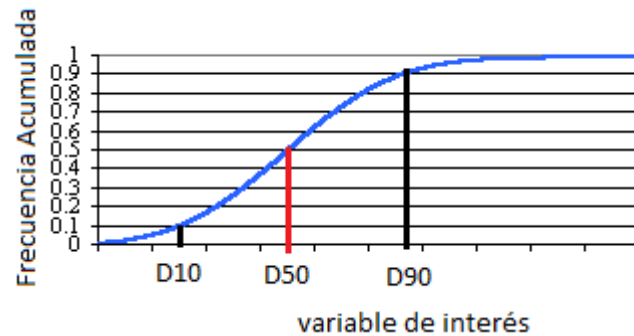


Figura 2. Curva de frecuencia acumulada de la distribución de tamaño de partículas.

Ambas curvas están relacionadas matemáticamente ya que la distribución acumulada es la integral de la frecuencia de distribución. Las distribuciones pueden ser calculadas considerando el número, la superficie, la masa o bien el volumen de la partícula. Para una dada población de partículas, las distribuciones por masa, número o superficie pueden diferir significativamente. En el método de tamizado se utiliza la masa, mientras que en los modernos equipos de difracción láser, se cuenta el número de partículas y se determina superficie y volumen de las mismas.

Estas curvas de frecuencia de la distribución o curvas acumulativas se caracterizan mediante diferentes parámetros, que reflejan la tendencia central de la población: la moda, la mediana o la media (pudiendo ser la media aritmética x , cuadrática x^2 , cúbica x^3 , geométrica $\log x$, armónica $1/x$, etc.).

La moda es el tamaño más frecuente que se encuentra en la muestra. Pero diferentes modas pueden obtenerse para distribuciones por número, superficie y volumen, por lo cual debe especificarse la base de cálculo cuando se informa el valor de la moda a fin de realizar comparaciones con valores de bibliografía.

Diferentes medias, pueden definirse para una distribución multimodal. En este caso, para facilitar la interpretación de los datos, es recomendable, la representación gráfica mediante una curva continua.

La mediana, señalada como D50 en la Figura 2, es utilizada frecuentemente. Puede leerse fácilmente, a partir de la distribución acumulativa como el tamaño de la partícula para el 50 % de la distribución. Divide la distribución en dos partes iguales. En la distribución por masa, la mitad de las partículas son menores que el tamaño de la mediana.

Otros valores útiles son los percentiles D10 y D90 (Figura 2) que representan los tamaños por debajo de los cuales se encuentra el 10 % o bien el 90 % de la población, respectivamente (Rhodes, 2008).

❖ Modelos para simular la distribución de tamaños

Cuando se tiene una distribución simétrica, como la que muestra la Figura 1, puede utilizarse para simular los datos, un modelo de distribución conocido como "Modelo de Distribución – Normal (DN)", donde los tamaños de partículas con diferencias iguales respecto de la media aritmética ocurren con la misma frecuencia. En este tipo de distribución la moda, la mediana y la media aritmética coinciden.

Existen pocas distribuciones que se ajustan a la DN. En general es más frecuente encontrar distribuciones asimétricas en la distribución de tamaño de partículas de origen natural. Para simular estas distribuciones que se apartan del comportamiento de la DN suelen usarse otros modelos matemáticos. Algunos de los más utilizados son el modelo de distribución log-normal y la

ecuación propuesta por Rosin – Rammler – Bennet, cuyos parámetros resultan eficaces estimadores de la tendencia central y la dispersión de la población.

❖ **Métodos para la determinación de la distribución de tamaño**

Existen diversas técnicas que pueden emplearse para determinar la distribución de tamaño de partícula. Entre los métodos de determinación pueden citarse: tamizado; microscopía; sedimentación; permeametría; detección electrozónica y difracción láser.

El **tamizado** consiste en la utilización de una serie de tamices de malla de alambre. Resulta un método simple y económico para el análisis de tamaño de partículas mayores a 45 μm . El método proporciona una distribución de masa y tamaño en base al diámetro de malla de cada tamiz. Como la longitud de la partícula no dificulta su paso por las aberturas del tamiz, el diámetro del tamiz depende del máximo ancho y máximo espesor de la partícula. Los tamices modernos más comunes tienen un tamaño tal, que la razón entre los tamaños de tamices adyacentes es la raíz cuarta de dos (por ejemplo, 45, 53, 63, 75, 90, 107 μm). El tamizado puede ofrecer una medida confiable y reproducible de la distribución de tamaño de partícula. Para valores menores a 20 μm se realiza el tamizado con inyección de aire y para valores hasta 5 μm se utiliza el tamizado húmedo en el cual la muestra de polvo es suspendida en un líquido.

El **microscopio óptico** puede utilizarse para tamaño de partículas de hasta 5 μm y el microscopio electrónico, para análisis de tamaños debajo de 5 μm . Acoplado a un sistema de análisis de imagen, el microscopio óptico puede dar distribuciones numéricas de tamaño y forma. Las formas irregulares dificultan el análisis, ya que el área proyectada para el observador depende de la orientación de la partícula.

En **sedimentación** se sigue la razón de sedimentación de una muestra de partículas suspendidas en un líquido.

La **permeametría** es un método de análisis de tamaño basado en la corriente de un fluido a través de un lecho relleno.

La **detección electrozónica** se basa en que las partículas se mantienen en suspensión en un electrolito diluido el cual es inducido a través de un

pequeño orificio aplicándole tensión. Mientras las partículas fluyen por el orificio se registra un pulso de tensión.

La **difracción láser** se basa en el fenómeno en la difracción de un haz de luz al pasar luz a través de una suspensión. Como las partículas de un líquido se mueven aleatoriamente (movimiento Browniano), la velocidad de ese movimiento es utilizado para determinar el tamaño de las partículas (Rhodes, 2008). El ángulo de difracción es inversamente proporcional al tamaño de la partícula. El instrumento cuenta con tres componentes: un láser como fuente de luz coherente de longitud de onda conocida (típicamente 0, 63 μm), un detector (generalmente una película de silicón fotosensible con un número de detectores discretos) y una celda que contiene la muestra y es atravesada por el haz de luz láser. Los instrumentos modernos pueden medir tamaño de partícula en el rango de 0,1 - 2000 μm conociendo los índices de refracción del material y del medio dispersante. Este método proporciona las distribuciones (de frecuencia y frecuencia acumulada) de tamaño de partículas en base al volumen de las partículas. Actualmente este tipo de análisis es de uso frecuente en la industria. Los equipos comerciales cuentan con programas (software) que permiten visualizar gráficamente las distribuciones de tamaño y calcular parámetros de tendencia central (media, mediana, etc.) y de la dispersión de la distribución (SPAN) (Rhodes, 2008).

1.9. Caracterización física y química de las moliendas.

1.9.1. Caracterización de las harinas obtenidas

Al igual que los cereales, las leguminosas requieren ser procesadas antes de su consumo y es conocido que el procesamiento altera su composición (Padmashere *et al.*, 1987, Granito *et al.*, 2002). En general, como se ha mencionado, en las leguminosas los procesamiento, principalmente los térmicos, incrementan el valor nutricional del producto al inactivar la mayor parte de los factores antinutricionales, si bien alteran sus propiedades funcionales (Barra de Rosas *et al.*, 2006).

Finalmente, las propiedades funcionales de las harinas se pueden evaluar en cuanto a las propiedades relativas a los procesos de cocción y elaboración (absorción de agua, solubilidad en agua, absorción de aceite) y/o

en cuanto a las propiedades asociadas a su caracterización organoléptica (color, textura).

❖ **Propiedades de absorción de agua y solubilidad**

La capacidad de absorción de agua, CAA, es la capacidad de un producto de asociarse con el agua cuando ésta es un factor limitante. Resulta una de las características más importantes de los polvos (Kaptso *et al.*, 2008).

En las harinas, los compuestos químicos responsables de la capacidad de absorción de agua son las proteínas y los carbohidratos, ya que éstos constituyentes poseen partes hidrofílicas (cadenas laterales polares o cargadas) (Eltayeb *et al.*, 2011).

La retención de agua por las proteínas es función de una serie de parámetros: tamaño; forma; características conformacionales; factores estéricos; balance hidrofílico - hidrofóbico de aminoácidos en la molécula proteica; lípidos y carbohidratos asociados con las proteínas; propiedades termodinámicas del sistema (energía de unión, tensión interfacial, entre otras); medio fisicoquímico (pH, fuerza iónica, presión de vapor, temperatura, presencia/ausencia de surfactantes, solubilidad de las moléculas proteicas). Los grupos amino polares de las moléculas proteicas son los sitios primarios de interacción de la proteína con el agua. Los sitios catiónicos, aniónicos y no iónicos unen distintas cantidades de agua (Sathe *et al.*, 1981).

Las proteínas consisten en estructuras con subunidades que se disocian con el calor siendo posible que las subunidades posean más sitios de unión con el agua que la proteína oligomérica (Abbey *et al.*, 1988; Kaptso *et al.*, 2008).

Se ha observado que los tratamientos térmicos, al aumentar la temperatura, en general, incrementan la CAA de las proteínas nativas. Este comportamiento fue observado en harinas de leguminosas tales como *Phaseolus vulgaris* (globulinas: 277%; albúminas: 318%), *Vigna unguiculata* y *Vigna radiata*, entre otras (Sathe *et al.*, 1981).

Excepcionalmente, en la harina de *Vigna subterranea*, secada a temperaturas altas, se ha encontrado menor CAA que en las harinas tratadas a temperaturas inferiores. Esta disminución en la capacidad de absorción de agua al incrementar la temperatura de secado, ha sido también observada en

harinas de porotos y granos de maíz. Este comportamiento ha sido atribuido al hecho que un incremento en la temperatura de secado incrementaría las propiedades hidrofóbicas de las proteínas dado que favorecería interacciones moleculares tales como las reacciones de Maillard. La reducción del CAA resultaría ventajosa cuando se busca disminuir la susceptibilidad de las proteínas a la desnaturalización por efecto del calor (Kaptso *et al.*, 2007).

❖ **Propiedades de absorción de aceite**

La capacidad de absorción de grasa o aceite (CAG), es la cantidad de grasa que puede ser absorbida por una dada muestra. La CAG expresa el número de cadenas laterales no polares de las proteínas que se enlazan con cadenas hidrocarbonadas de grasa. Una mayor proporción de proteínas hidrofóbicas, presentará mejores uniones con los lípidos. La capacidad de las proteínas para capturar físicamente a las grasas, genera como resultado, la formación de estructuras denominadas micelas.

La CAG, está determinada por varios factores: la estructura de la matriz proteica, la disposición de los aminoácidos dentro de la estructura proteica, el tipo de grasa y la presencia de almidones. En particular, la disposición de los aminoácidos dentro de la estructura proteica, determina las interacciones hidrofóbicas proteína-grasa (Sangroni, 2004; Granito, 2004).

Así, la presencia de proteínas con partes hidrofílicas e hidrofóbicas constituyen el principal determinante de la CAG (Sgarbieri, 1998; Eltayeb *et al.*, 2011).

El tratamiento térmico y la consiguiente desnaturalización proteica, contribuyen a alterar la disposición de las moléculas de grasa, usualmente dispersas dentro de la fase proteína - agua. El tratamiento térmico en la harina de *Vigna unguiculata*, respecto de la no tratada, provoca un incremento del 10,3 %, en el valor de la CAG, de 2.9 g/g a 3.2 g/g (Abbey *et al.*, 1998). En el caso de *Phaseolus vulgaris*, la CAG de las albúminas fue de 329 % y la de las globulinas 323 % (Sathe *et al.*, 1981).

Según Sathe (2002), las semillas de *Phaseolus sp.*, exhiben una CAG variable, en general inferior a 5g de aceite/g. Nagmani y Prakash (1997), para harinas crudas de leguminosas, reportan valores CAG de 2,46 - 2,72g de

aceite/g de muestra. Luego de la cocción, los valores oscilan entre 2,18 y 2,93 g de aceite/g muestra, incrementando ligeramente el rango de valores CAG.

La CAG, es una propiedad importante para la formulación de productos destinados para frituras, productos cárnicos, productos de panadería y sopas. Se relaciona, además, con la retención del sabor y la textura (Sathe, 2002; Granito, 2004).

❖ Color

Los frutos varían de color a medida que maduran pero además este factor también puede ser alterado a causa de los diferentes tratamientos poscosecha. Su percepción suele constituir el primer paso en la evaluación de la calidad de los mismos. El color es una característica importante de los alimentos. Incluso en algunos casos, lleva al consumidor a tomar la decisión de compra por inferir el sabor de un fruto o producto desde su color (Steenkamp, 1990).

En los últimos años se ha prestado mucha atención a la calidad de los alimentos durante el secado. La calidad de los productos deshidratados se ve afectada por el método de secado y por los cambios fisicoquímicos que ocurren en los tejidos durante el mismo. El método utilizado para el secado altera propiedades características de los materiales (color, textura, densidad, porosidad y absorción). El secado por aire es uno de los métodos más utilizados para la deshidratación de los alimentos. Los productos finales se caracterizan por baja porosidad, aparente aumento de la densidad y cambios significantes en el color y en la capacidad de absorción (Krokida *et al.*, 2001).

Todo cuerpo iluminado absorbe una parte de las ondas electromagnéticas y refleja las restantes. Las ondas reflejadas son captadas por el ojo e interpretadas como colores según las longitudes de ondas correspondientes. El ojo es capaz de percibir una región acotada del espectro de radiaciones electromagnéticas: el espectro visible (380 nm - 770 nm).

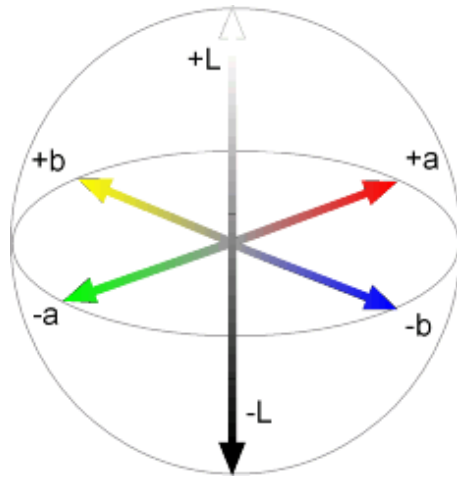
Para evaluar el color se han creado sistemas de medición que permiten cuantificarlo y expresarlo numéricamente.

Así, el sistema Munsell de color, diseñado por A.H. Munsell en 1905, consiste en un atlas que incluye tarjetas de colores, clasificadas por color, croma (saturación) y valor (luminosidad), con un total de 1225 patrones de

color convenientemente dispuestos para la comparación visual. Un sistema que no requiere instrumental. Muchos estándares de plástico o vidrio se han empleado en la industria. En el caso de productos azucarados (mieles, jugos) se han empleado patrones de vidrio. Para arvejas y otras legumbres, jugo de naranjas, duraznos, champiñones enlatados, se han usado patrones plásticos. Si bien, los patrones de vidrio o plástico tienen limitado el rango de coloración, los papeles pintados están disponibles en un rango mucho más amplio. Todos los patrones son frágiles y pueden cambiar de color con el uso. El hecho que repetidas observaciones visuales resulte tedioso hasta dificultar, por parte del observador, una definición clara de aquellos colores que no coinciden exactamente con los estándares, ha dado lugar al desarrollo y amplia difusión de los métodos instrumentales para la medición del color.

Un sistema más preciso, es el sistema CIE (Commission Internationale de l'Eclairage), en el cual el color es indicado por tres variables X, Y, Z conocidas como los valores triestímulo y que representan los tres colores primarios imaginarios. Es uno de los métodos más usados para medir y comunicar, de manera precisa, la información del color en los frutos y moliendas, entre otros. Puede considerarse que los colores existen en un espacio tridimensional, en el cual cada color particular tiene una única ubicación definida en términos de sus coordenadas cartesianas con respecto a los ejes L^* , a^* y b^* (CIE, 1986).

El punto (L^* , a^* y b^*) es una coordenada en el espacio tridimensional, relacionada con la luminosidad percibida (L^*), el ángulo hue (h) y la saturación (C). Como se observa en el Esquema 1, el eje vertical L^* es una medida de luminosidad o brillo de la superficie, desde el valor 100 que corresponde al blanco (muestras claras) al valor 0 que corresponde al negro (muestras oscuras), mientras que en el círculo hue (tono) a^* es una medida de la intensidad del color en el eje rojo $+a^*$ (**positivo**) al verde $-a^*$ (negativo), y b^* es una medida de la intensidad del color amarillo $+b^*$ (**positivo**) al azul $-b^*$ (negativo) (Francis, 1980). Los parámetros a^* y b^* varían entre -60 y +60.



Esquema 1. Representación del espacio de color CIELAB (Westland, 2001).

Los valores numéricos de a^* y b^* se utilizan para calcular las funciones de color “chroma” (C) y el ángulo de tono (h) utilizando las siguientes ecuaciones:

$$C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (1)$$

$$h = \arctg(b^*/a^*) \quad (2)$$

La función C puede distribuirse en los cuatro cuadrantes del plano a^*b^* y representa la intensidad o pureza del tono. Posee valores de 0 en el centro y se incrementa a medida que aumenta la distancia al centro. El ángulo hue (h) se encuentra en una rueda de colores de 360°. Se distribuye en los cuatro cuadrantes del plano a^*b^* . Según el criterio internacional para evaluar el parámetro h , al semieje $+a^*$ (rojo) le corresponde un ángulo hue de 0° y al semieje $+b^*$ (amarillo) un ángulo de 90°. Un incremento en el ángulo hue entre estos valores significa que el color se vuelve más amarillo mientras que una disminución en este ángulo significaría que se incrementa el rojo. En el círculo hue, 360° es igual a 0°, por lo tanto el rojo también estaría determinado por 360°. El ángulo h de 180° corresponde al semieje $-a^*$ (verde) y el de 270° al

semieje $-b^*$ (azul). Valores que disminuyen de 360° a 270° indicarían incremento de azul (Bakker *et al.*, 1986).

Cabe señalar que los parámetros de ambos sistemas de color se hallan relacionados de acuerdo a las siguientes expresiones, donde el subíndice n se refiere al patrón de calibración comúnmente utilizado (blanco):

$$\begin{aligned} & \text{[Blank Box]} \quad (3) \\ & \text{[Blank Box]} \quad (4) \\ & \text{[Blank Box]} \quad (5) \end{aligned}$$

Para estos sistemas de medición de color, la CIE consideró diferentes tipos de iluminantes ya que cada fuente de luz viene caracterizada por la energía que emite en las diferentes longitudes de onda. Los más comunes son: iluminante A: luz incandescente con una temperatura de color de 2854 K (Kelvin) (lámpara de tungsteno); iluminante C: luz solar de día (promedio) con una temperatura de color de 6774 K, no incluye la radiación ultravioleta, e iluminante D65: luz solar de día (promedio) con una temperatura de color de 6504 K, incluye la radiación ultravioleta. Además, como la sensibilidad del ojo depende del ángulo de observación, la CIE definió en 1931 un observador a 2° y en 1964 definió el observador a 10°, considerando una distancia al objeto de 50 cm.

Otros sistemas de medición de color son: $L^* C^* h^*$; Hunter $L^* a^* b^*$; $\Delta E^* a b$; y $L^* u^* v^*$, que también parten de los valores triestímulos basados en la medición de la reflectancia espectral.

El color de las harinas de algarrobo, no sólo depende de la naturaleza del producto sino también del proceso de secado al que se someten los frutos que van a ser molidos. Dado que durante el secado al sol o en corriente de aire, se produce un incremento de la temperatura, distintas reacciones pueden afectar el color de la harina: reacciones de pardeamiento no enzimático (tipo Maillard), reacciones de caramelización de azúcares y reacciones de oxidación de los componentes de la harina (Buera *et al.*, 1987, 1990; Prokopiuk, 2004).

2. Objetivos e hipótesis de trabajo

2.1. Objetivos generales y específicos

El propósito de esta investigación es proveer datos útiles que constituyan un aporte al diseño de tecnologías orientadas a optimizar la elaboración y funcionalidad de moliendas preparadas a partir de métodos innovativos y materia prima autóctona.

El **objetivo general** de esta investigación es desarrollar un método de obtención de harina, a escala laboratorio, a partir del fruto de algarrobo blanco y negro, analizar los caracteres anatómicos estructurales (micro, ultra y nano) de los productos de la molienda y establecer posibles relaciones con las propiedades funcionales de las moliendas obtenidas. El proceso involucra: a) el secado del fruto desde la humedad de cosecha hasta un nivel de humedad que asegure condiciones de molienda con alta recuperación de harina; b) optimizar la etapa de molienda con el fin de maximizar la fracción de harina apta para la elaboración de productos de panificación; c) determinar el efecto de las condiciones de molienda en las características de las fracciones de harina obtenidas de las siguientes propiedades funcionales: higroscopicidad, color, granulometría, capacidad de absorción de agua y de grasa/aceite y solubilidad; d) analizar los caracteres anatómicos estructurales de los productos de la molienda para establecer posibles relaciones con las propiedades funcionales mencionadas.

Los **objetivos específicos** involucran: 1.- Estudiar el secado de los frutos de tres diferentes especies de algarrobo mediante el método de secado en corriente de aire con el propósito de: a) obtener las curvas de la cinética del proceso de secado a diferentes temperaturas; b) modelar mediante ecuaciones matemáticas la cinética de secado; c) estimar el tiempo de secado necesario para alcanzar el nivel de humedad requerido para la molienda de los frutos utilizando modelos matemáticos; d) determinar el efecto de la temperatura de secado sobre la cinética del proceso; e) estudiar comparativamente el secado entre las diferentes especies estudiadas. 2 - Realizar ensayos de molienda: a) realizar la molienda de los frutos enteros de tres diferentes especies de

algarrobo en escala laboratorio empleando molinos de cuchillas y de discos dentados; b) separar las fracciones de molienda según su granulometría mediante una batería de tamices y calcular los rendimientos de molienda en base al fruto y a la harina obtenida (molienda); c) obtener la distribución de tamaño de partícula de la harina en base al método de tamizado; d) obtener la distribución de tamaño de partícula de la harina y de la fracción insoluble de la harina en base al método de difracción láser utilizando diferentes medios dispersantes; modelar las curvas de distribución acumulada de tamaño de partícula mediante la ecuación de Rosin – Rammler - Bennett; e) analizar comparativamente los resultados obtenidos para cada una de las especies de algarrobo estudiadas. 3 - Realizar la caracterización funcional de las harinas obtenidas por molienda de los frutos de tres especies de *Prosopis* L.: a) en términos de su capacidad de absorción de agua (CAA) y grasa/aceite (CAG); b) en términos de la solubilidad en agua; c) determinar los índices de absorción y solubilidad en agua. 4.- Color: a) obtener los parámetros de color de las harinas en base al sistema CIELAB utilizando fotocolorímetro; b) determinar las diferencias de color entre las diferentes harinas mediante la función diferencia de color (ΔE), en términos de las coordenadas cromáticas (x , y) y los parámetros de color del sistema CIELAB; c) evaluar estadísticamente el nivel de significación de las diferencias en base a pruebas estadísticas de comparación múltiple (Test de Tukey). 5.- Caracterización microscópica: a) determinar los caracteres anatómicos estructurales (micro, ultra y nano) en las muestras control y moliendas; b) determinar la presencia de fibras, proteínas y aporte de minerales de las harinas de algarrobo mediante distintas técnicas microscópicas (MO, MET, FESEM/MEBA-EDX y AFM). 6) Proponer una mezcla de harina de sencilla formulación y alta calidad nutricional.

2.2. Hipótesis

El conocimiento de los caracteres estructurales (micro, ultra y nano), el análisis de las propiedades físicas (color, higroscopicidad, CAA, CAG) y la composición química de las moliendas resultantes y/o mezclas de moliendas pretende aportar datos que permitan comprender el comportamiento de los frutos y la composición de los productos resultantes en cuanto a fibras, minerales y proteínas obtenidos a través de procesos prediseñados. El estudio

aportará datos útiles que sumados a las mediciones de color, higroscopicidad y composición química serán aplicables al pronóstico de su funcionalidad y eficiencia nutricional.

3. Materiales y métodos

3.1. Materiales

El material de estudio consistió en frutos (lomentos) de las siguientes tres especies de algarrobos nativos de Argentina: **1.- *Prosopis alba*** (algarrobo blanco) ejemplares creciendo en la Provincia Fitogeográfica Chaqueña: sudeste y centro de la provincia de Córdoba: camino de Villa María a Córdoba (capital) por ruta 158, localidades: La Playosa, Pozo del Molle, Las Varillas y por ruta 13, localidades: El Arañado, Sacanta, Calchín, Luque, Villa del Rosario, Matorrales, Pilar; provincia de Formosa: localidad Las Lomitas; **2.- *P. chilensis*** (algarrobo blanco, algarrobo de Chile), ejemplares creciendo en la Provincia Fitogeográfica del Monte: oeste de la provincia de Córdoba: localidad de La Paz; provincia de La Rioja: localidades: Angulo, Chepes, Aimogasta, ruta 78 camino a Famatina; provincia de Catamarca: localidades: El Puesto, Tinogasta; **3.- *P. flexuosa*** (algarrobo negro, algarrobo dulce), ejemplares creciendo en la Provincia Fitogeográfica del Monte: provincia de San Luis: localidades: Quines, Santa Rosa de Conlara, camino a Villa Dolores; provincia de La Rioja: localidades: cruce ruta 38 y 60, Chepes, Aimogasta, Bañado de los Pantanos, La Ciénaga de Arauco; provincia de Catamarca: localidad El Puesto (Figura 3 A-D).

Se prepararon algunos de los correspondientes ejemplares de herbario, que fueron depositados en el Herbario del Instituto de Botánica Darwinion (SI - IBODA).

Las tres especies incluidas en esta investigación han sido seleccionadas por su alta producción de frutos, buena palatabilidad y por registrar una amplia área de distribución.

Se efectuaron tres campañas para realizar la cosecha de los frutos. En cada caso, lomentos maduros y enteros fueron colectados por el autor, directamente del árbol y de diferentes ejemplares, tratando de abarcar en cada operación la mayor cantidad (n = 30) de individuos creciendo en el área de estudio elegida.

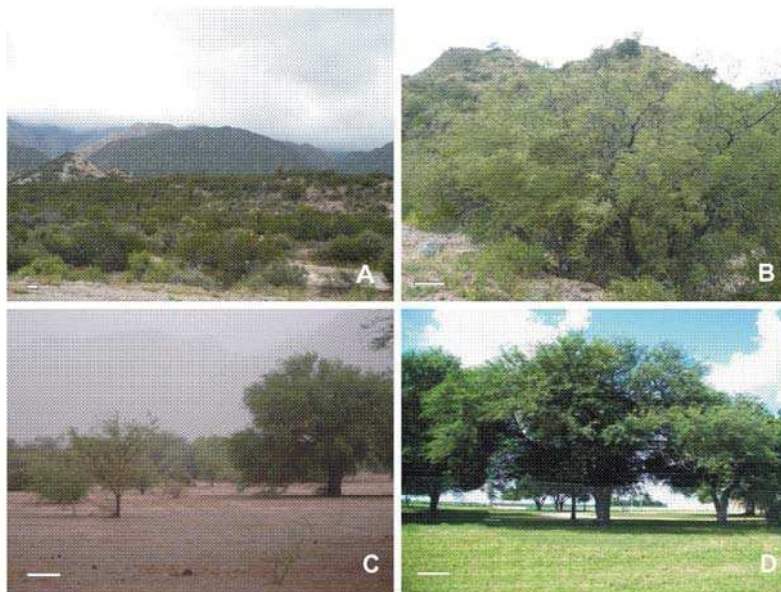


Figura 3. A-D, Árboles creciendo en las diferentes áreas de estudio: A-B, *P. flexuosa* DC.: A, camino de La Rioja a San Luis; B, RN N° 60 km 1146, (provincia de La Rioja); C, *P. chilensis* (Molina) Stuntz: emend. Burkart, localidad El Puesto (provincia de Catamarca); D, *P. alba* Griseb., localidad de Calchín (provincia de Córdoba). Escalas: A-B = 1m; C = 1,70m; D = 1,50m.

3.2. Métodos

3.2.1. Limpieza y acondicionamiento de los materiales para su estudio

Una vez cosechados los frutos se guardaron en bolsas de papel madera, se mantuvieron en lugares secos y frescos hasta el momento del inicio del proceso de acondicionamiento, efectuado en el Laboratorio de Tecnología de Poscosecha, Departamento de Industrias, y en el Laboratorio de Anatomía Aplicada, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, ambos de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires (FCEN-UBA).

En cada caso, se realizó la limpieza los frutos en forma manual con un cepillo de cerda natural.

Luego, todos los frutos fueron correctamente dispuestos en bolsas Zyploc con cierre hermético y tratando de eliminar la mayor cantidad de aire posible, a los efectos de lograr condiciones próximas al vacío. Los materiales así preparados se dispusieron en freezer doméstico Whirlpool AF6106 (CABA, Argentina) a - 18° C.

Antes del inicio de cada ensayo experimental, los frutos, mantenidos en las bolsas cerradas, se descongelaron a temperatura ambiente (22 – 24° C) durante una hora.

3.2.2. Secado

Dada la heterogeneidad de las muestras en cuanto al contenido de humedad, se decidió implementar una etapa previa de humectación de los frutos, para uniformar el contenido de humedad inicial.

❖ Humectación y determinación de la humedad inicial de los frutos

Muestras de frutos fueron dispuestos, formando una monocapa, sobre zarandas de alambre ASTM 6 mesh (3360 µm), para lograr una humectación uniforme. Estas zarandas se ubicaron dentro de desecadores Kartell con agua a temperatura ambiente.

Luego, se realizó el seguimiento del peso de las muestras hasta saturación y se determinó el contenido de humedad inicial de los frutos.

❖ Determinación del contenido de humedad de la harina

Para obtener la harina a escala laboratorio, se utilizó un molinillo de cuchillas DECALAB Fbr S.R.L. (Buenos Aires, Argentina) apto para procesar hasta 30 gramos de muestra. Para cada muestra, se aplicó un tiempo de molienda de 15 segundos.

El contenido de humedad de la harina se determinó en muestras de harina, secadas a 70° C hasta constancia de peso aplicando el método AACC 44 – 15 (1983), en una estufa FAC S.A. (SRD 4060 AF (CABA, Argentina) conectada a una bomba de vacío y equipada con un controlador de temperatura NOVUS, NH8O1 (CABA, Argentina). En cada caso, el peso de las muestras se registró con una balanza de precisión (+/- 0,0001 g) OHAUS (Explorer E02140 2009, Ohaus Corporation, Ohio, USA).

❖ Cinética de secado

Para la obtención de las curvas de secado de los frutos, se utilizó un secadero tipo túnel de corriente de aire con control de la temperatura AEW Ltd. (Edgware, Middlesex, England) (Figura 4). La velocidad del aire en el secadero fue 4,5 m/s y se determinó utilizando un velómetro ALNOR (TSI, Inc., Tennessee, USA). Esta alta velocidad asegura secado efectivo y una difusión controlada del agua del fruto. Las temperaturas de secado fueron 40° C, 50° C, 60° C y 70° C. La humedad relativa del aire fue 4 - 10 %, los valores se determinaron con un termómetro de bulbo húmedo FRANKLIN (CABA, Argentina).

Los frutos, 40 gramos aproximadamente, se colocaron formando una monocapa sobre una malla de alambre asegurando el paso de la corriente de aire.

Para el seguimiento de la evolución del secado de los frutos, éstos se pesaron a intervalos regulares de tiempo, en una balanza de precisión (+/- 0,1 g) METTLER TOLEDO (PB 3001 - S, Schwerzenbach, Suiza).

El tiempo de secado para las diferentes corridas estuvo comprendido entre 3½ h a 40° C y 2 h a 70° C.

Se realizaron dos ensayos de secado en *P. alba* y *P. flexuosa* y tres ensayos en *P. chilensis*.



Figura 4. Secadero tipo túnel de corriente de aire, con control de temperatura

❖ Modelado de las curvas de cinética de secado. Ecuación de Peleg

En este estudio, se aplicó la ecuación de Peleg para describir la cinética de deshidratación de los frutos.

Para modelar la eliminación de agua en alimentos, Peleg (1988) propuso la siguiente ecuación empírica a dos parámetros:-

$$m(t) = m_o + \frac{t}{k_1 + k_2 t} \quad (1)$$

Siendo $m(t)$ el contenido de humedad al tiempo t , m_o el contenido de humedad inicial del producto y k_1 , k_2 los parámetros del modelo. Con el objeto de interpretar el significado de estos parámetros se deriva la ecuación (1) respecto del tiempo tomándose el límite para $t \rightarrow 0$,

$$\lim_{t \rightarrow 0} \delta m / \delta t = 1/k_1 = v_i \quad (2)$$

De la cual se deduce que $1/k_1$ representa la velocidad inicial de secado.

Considerando el límite para $t \rightarrow \infty$, en la ecuación (1) se obtiene la relación entre k_2 y el contenido de humedad de equilibrio (m_e),

$$m_e = m_o + 1/k_2 \quad (3)$$

Con el objeto de obtener los parámetros del modelo se propone utilizar la forma lineal de la ecuación (1), resultando la siguiente expresión:

$$t / (m(t) - m_o) = k_1 + k_2 t \quad (4)$$

Graficando $t / (m(t) - m_o)$ en función del tiempo de secado, se obtiene una recta con k_1 como la ordenada al origen y k_2 como la pendiente de la recta.

❖ Efecto de la temperatura de secado. Ecuación de Arrhenius

Para evaluar el efecto de la temperatura sobre los parámetros cinéticos, se aplicó la ecuación de Arrhenius.

La ecuación de Arrhenius es una expresión matemática que se utiliza para modelar la dependencia de la constante de velocidad (o cinética) con la temperatura. En otras palabras, expresa la dependencia de la constante de

velocidad V_i ($1/k_1^0$) de secado con la temperatura (T) siendo E_a la energía de activación del proceso de secado. Esta relación empírica es frecuentemente utilizada para modelar la variación de temperatura de coeficientes de difusión, población de vacancias cristalinas, velocidad de fluencia y muchas otras reacciones o procesos inducidos térmicamente.

En este estudio, el efecto de la temperatura del aire de secado sobre los parámetros de la ecuación de Peleg ($1/k_1$, k_2) se modeló mediante la ecuación de Arrhenius:

$$V_i = (1/k_1) = (1/k_1^0) \times e^{-E_a/RT} \quad (5)$$

siendo los parámetros de Arrhenius: $1/k_1^0$, el factor pre-exponencial de Arrhenius y E_a , la energía de activación expresada en J/mol, R corresponde a la constante universal de los gases (8,314 J/mol . °K) y T es la temperatura absoluta en grados Kelvin.

El factor pre-exponencial, $1/k_1^0$ es una constante de proporcionalidad que representa el valor asintótico cuando $T \rightarrow \infty$.

Cuanto mayor sea el valor de E_a más se verá afectada la velocidad de secado por efecto de la temperatura. Los parámetros de la ecuación de Arrhenius se pueden obtener a partir de la expresión linealizada de la ecuación (5):

$$\ln (1/k_1) = \ln (1/k_1^0) - [E_a/R] \cdot 1/T \quad (6)$$

Graficando el miembro de la izquierda en función de $1/T$, la ecuación de Arrhenius da una línea recta. El parámetro E_a se obtiene de la pendiente y el factor pre-exponencial de la ordenada al origen.

3.2.3. Molienda y tamizado

Para la obtención de harina de algarrobo, luego del secado, fueron molidos los frutos de las tres especies analizadas. Para la primera molienda a escala laboratorio, se utilizó un molino a cuchillas DECALAB Fbr (Decalab SRL (CABA, Argentina), que opera a velocidad constante y para la segunda molienda, un molino de discos dentados con estrías radiales RILO, C6 (Rilo S.A, CABA, Argentina), que también opera a velocidad constante y permite

variar la distancia entre discos para obtener moliendas de diferentes grados (Figura 5 A-D).

Se tuvo en cuenta el tiempo aplicado y el grado de molienda, parámetros importantes para evaluar la granulometría de las harinas resultantes.

Las harinas obtenidas por molienda fueron sometidas a un proceso de tamizado. Se utilizó una batería de tamices montada en un dispositivo vibrador marca ZONYTEST laboratorio (Rey & Ronzoni S.R.L., CABA, Argentina) que facilitó la separación de la molienda en distintas fracciones (Figura 6 A-D). Se determinó el rendimiento de las distintas fracciones por pesada y se fijó el rango de tamaño de partícula de las mismas para construir el histograma de las harinas obtenidas.

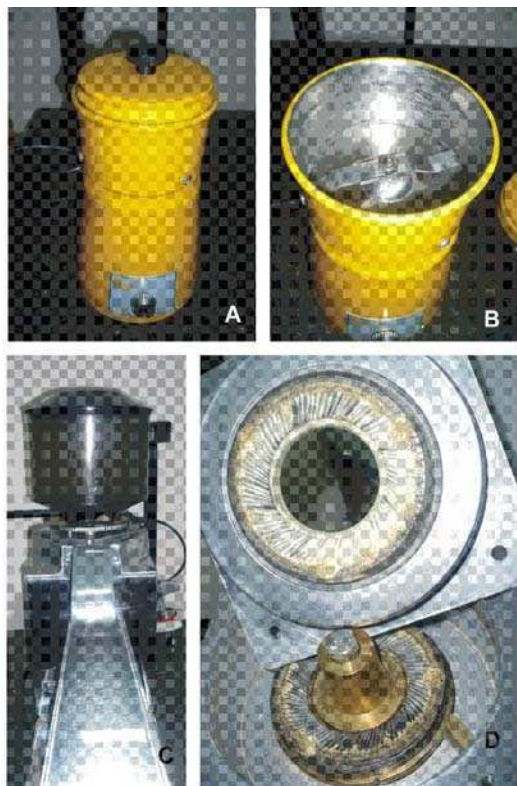


Figura 5. A-B, Molino a cuchillas marca DECALAB: A, aspecto general; B, detalle de la cuchilla; C-D, Molino de discos dentados con estrías radiales marca RILO, modelo C6: C, aspecto general; D, discos dentados con estrías radiales, detalle.

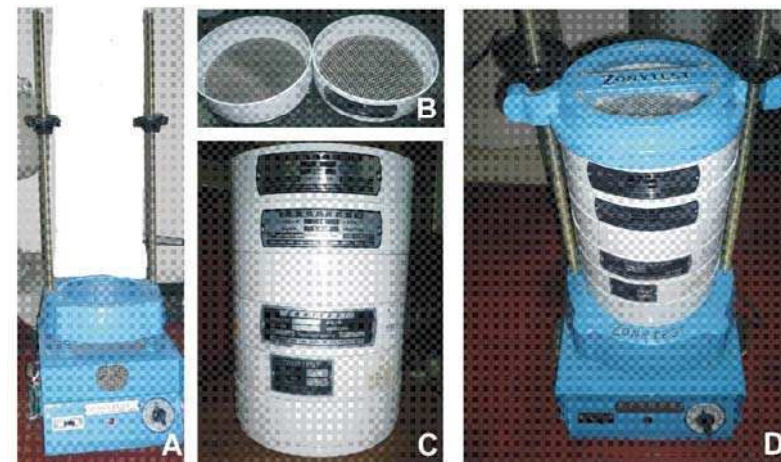


Figura 6. A-D, equipo ZONYTEST: A, vibrador; B, dos zarandas, detalles; C, batería de zarandas; D, equipo ensamblado.

❖ Método diseñado para la obtención de harina de “algarrobo”

El procedimiento diseñado y ensayado para la obtención de harina a partir de frutos de las tres especies del género seleccionadas incluyó la siguiente metodología de trabajo: a) frutos previamente seleccionados y limpios, se secaron en corriente de aire a 60° C hasta una humedad final entre 5 - 6% (base seca), se colocaron en bolsas de polietileno Zyploc y se almacenaron en freezer a -18° C; b) para la molienda, las bolsas con los frutos almacenados fueron retiradas del freezer y se colocaron sobre la mesa de trabajo. El tiempo calculado para alcanzar la temperatura ambiente fue aproximadamente 20-30 minutos; c) los frutos se cortaron con una tijera en trozos de aproximadamente 1 cm (Meyer *et al.*, 1986). En cada caso, se molieron 30 gramos de frutos cortados, durante 15 segundos, en un molinillo de cuchillas Decalab. Este tiempo ensayado no permite que la temperatura del equipo aumente durante la molienda; d) la harina obtenida se tamizó durante 15 minutos, utilizando un equipo Zonytest equipado con la siguiente batería de zarandas: de tajos (1,75 mm), N° 6 (3360 µm), N° 14 (1410 µm), N° 16 (1190 µm), N° 40 (420 µm) y N° 45 (350 µm). Se descartó el endocarpo retenido, según las especies, en el tamiz de tajos y/o en el tamiz N° 6 (3360 µm). Se

recuperó y molió nuevamente durante 15 segundos las fracciones retenidas en el tamiz N° 6 (3360 µm), N° 14 (1410 µm) y/o N° 16 (1190 µm). La molienda obtenida se procesó luego en un molino Rilo de discos dentados con estrías radiales; e) en cada caso las distintas fracciones de la molienda gruesa (retenida en el tamiz N° 40 de 420 µm), media (retenida en el tamiz N° 45 de 350 µm) y fina (menor a 350 µm) se colocó en frascos de plástico con cierre hermético y se almacenó en un desecador.

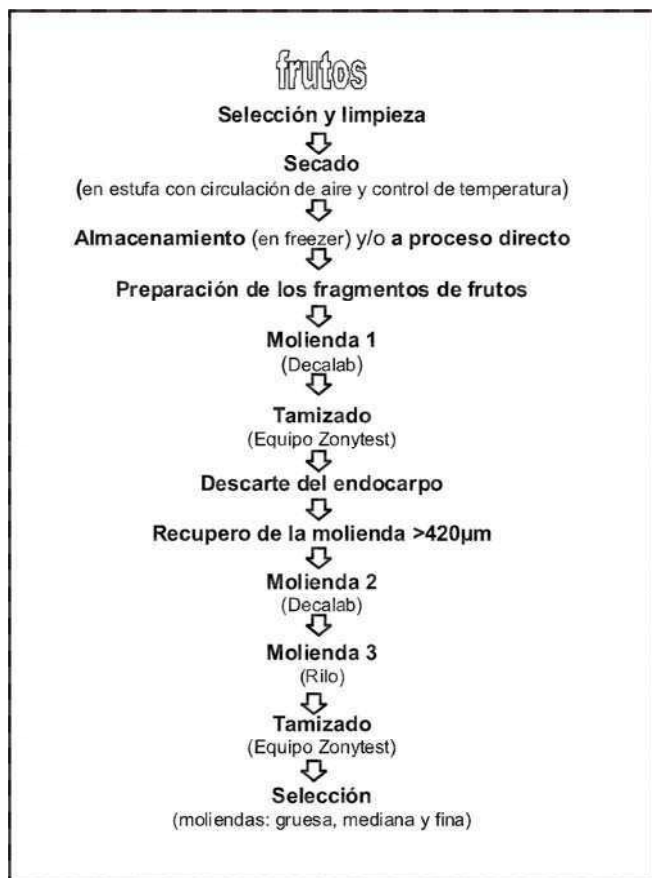


Diagrama de flujo. Método de molienda seca, diseñado y ensayado a escala laboratorio: obtención de harina de algarrobo.

3.2.4. Rendimiento de la molienda

Se determinó en base a 150 g de harina obtenida según el procedimiento previamente detallado. Cada una de las fracciones obtenidas fueron pesadas en una balanza Mettler Toledo (+/- 0,1g)

Los rendimientos expresados como porcentaje (%) se calcularon mediante las ecuaciones (1) y (2)

$$R(\%) = \left(\frac{\text{masa de harina}}{\text{masa inicial de fruto}} \right) * 100 \quad (1)$$

$$R_2(\%) = \left(\frac{\text{masa de la fracción de harina}}{\text{masa total de harina}} \right) * 100 \quad (2)$$

3.2.5. Distribución del tamaño de la partícula

Se aplicó el método de dispersión dinámica de luz o DLS (Dynamic Light Scattering). Se utilizaron los equipos:

- Cilas 1180 L** para determinar la distribución de tamaño de partícula de la fracción insoluble en agua se prepararon suspensiones acuosas de harina.
- Mastersizer 2000** (Malvern Instruments, Worcestershire, United Kingdom): para determinar la distribución de tamaño de partícula de la harina se prepararon suspensiones de harina en etanol.

La técnica de difracción láser presente en ambos analizadores de partículas, se basa en el siguiente principio: "las partículas que atraviesan un haz de láser dispersan la luz con un ángulo que está directamente relacionado con su tamaño". A medida que el tamaño de la partícula decrece, el ángulo observado aumenta logarítmicamente. La intensidad de dispersión observada, también depende de los tamaños de las partículas y disminuye, con una buena aproximación, en relación al área de la partícula. Por otro lado, las partículas grandes dispersan la luz con ángulos pequeños con gran intensidad, mientras que las pequeñas partículas dispersan la luz con ángulos mayores pero con baja intensidad. La primera medición con un sistema de difracción láser es la captura de los datos de dispersión de la luz de las partículas en estudio. Los instrumentos modernos, están provistos de un detector logarítmico de secuencia, dotados con máxima sensibilidad, miden dispersiones desde 0,02 a

135 grados (www.malvern.com). El analizador de partículas **Cilas 1180 L** utiliza tecnología difracción de láser y cámara CCD que permite medir partículas entre 0.04 - 500 µm en una sola corrida, haciendo las mediciones en medio acuoso.

Mide el tamaño de grano de las partículas, la proporción de cada tamaño de grano y la superficie específica de cada partícula. Las partículas más finas son medidas capturando el patrón de difracción y aplicando la teoría de Fraunhofer o de Mie. Las partículas más gruesas son medidas utilizando Transformaciones de Fourier en tiempo real de la imagen obtenida por la cámara CCD equipada con una unidad de procesamiento digital (DSP).

El analizador **Mastersize 2000** usa el método de la dispersión dinámica de la luz, DLS, identificando la intensidad de luz dispersada a un determinado ángulo. El diámetro medido con DSL estima cómo una partícula se mueve en un líquido. El equipo cuenta con un sistema de bombeo (Hydro 2000MU) que impulsa la muestra a través del láser, la velocidad de la bomba fue de 18000 RPM. Ambos analizadores requieren, como dato, el índice de refracción (RI) de la fase dispersa (1,47) y su parámetro de absorción (0,001).

En cuanto a las características del análisis y la preparación de las muestras, la cantidad de muestra necesaria para el análisis depende de las características del material (densidad, tamaño, etc.). Para muestras sólidas se necesita entre 6 y 10 g de muestra y es necesario que las partículas no estén artificialmente aglutinadas; para muestras líquidas se requiere entre 5 y 10 ml. El resultado es entregado en forma de tablas y gráficos de frecuencia relativa y acumulada. Se informan los valores de la mediana (D50), la media y los percentilos (D10 y D90). Cada muestra presenta una tabla con los intervalos de clase y las frecuencias relativas y/o acumuladas, y un gráfico compuesto por un histograma y la curva de frecuencia acumulada superpuesta. La dispersión de la distribución de tamaño (SPAN) se calcula como:

$$\text{SPAN} = (\text{D90} - \text{D10})/\text{D50} \quad (2)$$

Cuando la distribución es normal o gaussiana, el modo, la mediana y la media o promedio, coinciden.

Cuando la distribución no es normal puede utilizarse la ecuación, de tipo log normal, propuesta por Rosin-Rammler-Bennet (RRB) para simular la curva de distribución acumulada (Holdich, 2002):

$$Y = 1 - \exp \left[- \left(\frac{x}{x_{63.2}} \right)^n \right] \quad (3)$$

Donde Y es la frecuencia acumulada, x es el diámetro medio de la partícula (en µm), $x_{63.2}$ representa el tamaño de la partícula por debajo del cual se encuentra el 63.2% de la población y n es una constante denominada índice de homogeneidad.

En el caso de distribuciones que se apartan de una distribución normal, el valor de $x_{63.2}$ es un estimador más representativo de la media poblacional que la mediana (D50).

3.2.6. Composición química de las fracciones

Las harinas fueron analizadas para determinar: contenido de humedad: método 943.01; AOAC (1995); carbohidratos: método AACC 76-11; AACC (1995); proteína (N x 6.25) ceniza y fibra métodos AOAC (1995).

3.2.7. Determinación del color de la harina

Para las mediciones de color se utilizó un Colorímetro Hunter (Hunterlab Labscan Spectro Colorimeter LS – 5000, Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, Virginia, USA) que fue calibrado con un patrón (control) blanco provisto por el fabricante ($X_n = 95,02$, $Y_n = 100$, $Z_n = 108,82$). Se trabajó con el iluminante D_{65} (similar a la luz solar) usando un ángulo de 10° (observador standard). Se determinaron los parámetros de color L^* , a^* , b^* (luminosidad, rojo, amarillo, respectivamente) en base al sistema CIELAB para la harina obtenida de cada una de las especies, así como también los valores de las variables cromáticas (x , y) que se calcularon en base a los valores triestímulo X , Y , Z , de acuerdo a las siguientes ecuaciones

$$x = X/X + Y + Z \quad (1)$$

$$y = Y/X + Y + Z \quad (2)$$

En todos los casos, para cada muestra, se informan los valores promedio de cada parámetro de color resultante de ocho lecturas realizadas con el fotocolorímetro.

Con el propósito de comparar los resultados de cada especie entre sí, se determinó la diferencia de color (ΔE) entre las harinas utilizando la siguiente fórmula:

$$\Delta E = ((\Delta L^*) + (\Delta a^*) + (\Delta b^*))^{1/2} \quad (3)$$

donde ΔL^* , Δa^* y Δb^* representan la diferencia entre los valores de luminosidad y cromaticidad (a^* y b^*) entre dos de las especies estudiadas.

La técnica de medición de color requiere que la granulometría de la harina sea menor a 1 mm, condición que cumplan todas las muestras analizadas. Para efectuar cada medición se utilizó una caja de Petri conteniendo la muestra de harina que debía estar compactada y llegar hasta el borde de la misma. El espesor de la muestra (2 cm aproximadamente) fue suficiente para obtener reproducibilidad. Los bordes de la caja de Petri se sellaron con cinta aislante negra para evitar filtraciones de luz.

3.2.8. Determinación de los índices: absorción de agua y solubilidad

Para la determinación de la capacidad de absorción de agua (CAA), del índice de absorción de agua (IAA) y del índice de solubilidad en agua (ISA) se empleó el método de Chiang *et al.*, (2004) con algunas modificaciones debido a las características de las moliendas.

La CAA es una de las características más importantes de las harinas. Se define como la habilidad de un producto de asociarse con el agua. La experiencia se realiza en exceso de agua o sea en condiciones en que el producto actúa como factor limitante. El IAA mide el volumen ocupado por un polímero después de su hidratación en exceso de agua. El ISA determina la cantidad de polisacáridos libres o liberados al hidratar en condiciones de exceso de agua (Ascheri *et al.*, 2005; Kaptso *et al.*, 2008).

En tubos de centrifuga de 50 ml de capacidad, se introdujeron 2 g de muestra de harina (granulometría $> 420 \mu m > 350 \mu m < 350 \mu m$) y luego se añadieron 30 ml de agua destilada. Las suspensiones de harina se agitaron primero manualmente 5 veces y luego con un mezclador tipo vortex, por 10 segundos. Los tubos se llevaron a un baño de agua termostatzado con velocidad de agitación controlable Vicking, Dubnoff, (Argentina) a $30^\circ C (\pm 2,5^\circ C)$ durante 30 minutos. A continuación, las suspensiones fueron centrifugadas

a $1000 \times g$ (2000 rpm), por 10 minutos en una centrifuga Rolco (2070, Argentina). Debido a la presencia de partículas en suspensión en las tres especies estudiadas, se centrifugaron las muestras durante 10 minutos adicionales utilizando $2250 \times g$ (3000 rpm). Una vez concluida la centrifugación, se dejó descansar tres minutos. El contenido del tubo fue filtrado a través de una malla N° 45 ($350 \mu m$) recolectándose y pesándose el sedimento húmedo retenido para la determinación de los índice CAA e IAA. El filtrado se recolectó para la determinación del índice de solubilidad (ISA). El sedimento húmedo retenido en el tamiz y el sobrenadante retenido, se secaron a $50^\circ C$ en una estufa de circulación forzada FAC (SRD 4060 AF), con controlador NOVUS, NH801 por 24 hs hasta peso constante o total evaporación. Finalmente se determinó gravimétricamente el peso del sedimento seco y del sobrenadante retenido llevado a sequedad, en una balanza analítica ($\pm 0,1 \text{ mg}$). En todos los casos, la experiencia se efectuó por triplicado.

Los índices CAA, IAA, ISA y S se calcularon utilizando las siguientes ecuaciones:

$$CAA = \text{peso del agua retenida (g)} / \text{peso de la muestra (g)} \quad (1)$$

$$IAA = \text{peso del sedimento (g)} / \text{peso ss* de la muestra (g)} \quad (2)$$

$$ISA (\%) = (\text{peso seco del sobrenadante} / \text{peso ss* de la muestra}) \times 100 \quad (3)$$

$$S (\text{g/ml}) = \text{peso seco del sobrenadante} / \text{ml de solución} \quad (4)$$

*ss: sólido seco

3.2.9. Determinación de la capacidad de absorción de grasa

Para la determinación de la capacidad de absorción de grasa (CAG) existen distintos métodos (Lin y Humbert, 1974; Beuchat, 1977; Dench *et al.*, 1981, Granito, 2004; Ramírez *et al.*, 2009, entre otros).

En este trabajo se utilizó el método de Beuchat, 1977, con algunas modificaciones, por tratarse de una molienda no tradicional y heterogénea. Este método se basa en cuantificar la cantidad de aceite que permanece unida a la

muestra luego de aplicar una fuerza externa (centrifugación). Los resultados se expresan como gramos de aceite retenidos por gramo de aceite agregado.

Las harinas fueron molidas previamente de comenzar la experiencia y guardadas en frascos plásticos herméticos con tapa a rosca, para evitar cualquier modificación en el contenido de humedad. En el caso de *P. flexuosa*, a pesar de esta precaución, igualmente se observó la presencia de importantes agregados previos al pasaje a tubos de centrifugación; en *P. chilensis* la agregación fue menor y en *P. alba*, nula y con abundante presencia de fibras.

Para esta determinación se emplearon 2 g de harina, contenidos en un tubo de centrifuga graduado de 50 ml, a la cual se le agregaron 20 ml de aceite de maíz (Corazón, Germaíz S.A.). El tubo se agitó manualmente 15 veces y luego en un mezclador tipo vortex, durante 1 minuto a temperatura ambiente. La suspensión se centrifugó a 3400 rpm por 30 min. Se dejaron descansar por 3 minutos, luego se eliminó el sobrenadante. A continuación se pesaron los precipitados. Los resultados se expresaron como gramos de aceite retenidos por gramo de muestra en base seca.

3.3. Estudios anatómicos

Los estudios anatómicos se realizaron en el Laboratorio de Anatomía Vegetal del Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental (FCEN - UBA). Se utilizaron los servicios del MEBA (SEGEMAR, INTI) y FESEM, MET y MFA del Centro de Microscopía Avanzada (CMA), FCEN, UBA.

En todos los casos, para la preparación de los especímenes se utilizaron las técnicas histológicas convencionales publicadas por O'Brien y Mc Cully (1981) y D'Ambrogio de Argüeso (1986).

Microscopio estereoscópico o lupa

Se realizaron observaciones de los frutos y semillas de las tres especies analizadas para caracterizarlos en cuanto al aspecto general y en corte transversal. En cada caso, se utilizó una lupa Nikon SMZ-U (Tokio, Japón), se tomaron fotomicrografías para documentar los principales caracteres: a) exomorfológicos de los frutos y de las semillas de cada uno de los especímenes (control) analizados y b) anatómico - estructurales del fruto

(epicarpo, mesocarpo y endocarpo) y de las semillas (tegumento seminal, endosperma y embrión).

Microscopio óptico (MO)

Para la realización de los test histoquímicos, se efectuaron, a mano alzada, secciones transversales de las semillas de frutos control de las especies estudiadas. Para la identificación de polisacáridos pépticos y para caracterizar el endosperma, las secciones fueron colocadas en solución acuosa de rojo de rutenio (Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) 0,1 % (p/v). La presencia de polisacáridos pépticos se indica por el color púrpura.

Para la identificación de lípidos, las secciones fueron tratadas durante un minuto con una solución saturada de Sudán IV (Sigma Chemical Co., St. Louis, EE. UU.) 1–2 % (p/v) a saturación en alcohol 80°. La presencia de lípidos se indica por el color naranja intenso.

Para la identificación de los cuerpos proteicos las secciones fueron colocadas en agua y observadas al microscopio óptico.

A partir de muestras incluidas en resina Spurr, se obtuvieron secciones de 1 µm de espesor. Éstas fueron teñidas con azul de toluidina y examinadas para documentar los principales caracteres estructurales con un microscopio óptico Leica DM 2500 (Nussloch, Alemania) dotado con cámara digital Leica EC 3 (Nussloch, Alemania).

Microscopio electrónico de barrido (MEBA/FESEM)

Con microscopía electrónica de barrido se analizaron las características morfológicas ultraestructurales en vista superficial y en corte de los frutos control y de las moliendas.

Secciones del fruto y moliendas fueron dispuestas, sin tratamiento previo, sobre la platina de un microscopio electrónico de barrido ambiental (MEBA) Philips XL 30 (Eindhoven, Holanda) de SEGEMAR, INTI operando a una aceleración de voltaje entre 10,0 - 20,0 kV y condiciones de presión variable entre 0,8 - 3,2 Torr y de un microscopio electrónico con campo de emisión (FESEM) Zeiss Supra 40 (Oberkochen, Alemania) del CMA, FCEN, UBA, operando a una aceleración de voltaje de 2 - 3 kV y condiciones de presión 1 x

10⁻⁶ mbar. Ambos microscopios dotados con microsonda dispersiva de energía para análisis. En todos los casos se utilizó un detector GSE.

Se realizaron observaciones ultraestructurales en vista superficial y en sección transversal del epicarpo, mesocarpo y endocarpo de frutos control y del tegumento seminal, endosperma y embrión de las semillas. Se identificaron, además, los diferentes componentes en las fracciones de las moliendas obtenidas.

En el caso de la semilla, para la identificación de los elementos químicos presentes en los cuerpos proteicos de las muestras control y moliendas se realizó el análisis de la composición mineral de los mismos utilizando los microscopios MEBA/EDAX Philips XL 30 (Eindhoven, Holanda) del SEGEMAR, INTI y FESEM/EDAX Zeiss Supra 40 (Oberkochen, Alemania) del CMA, FCEN, UBA. En cada caso se obtuvo el espectro de energía característico de los elementos químicos presentes en las muestras analizadas.

Microscopio electrónico de transmisión (MET)

Se cortaron con un bisturí piezas de cotiledón de alrededor de 1mm³ de: a) semillas control, b) tratado, secado a 60° C y c) tratado, secado a 60° C y molido de *P. chilensis*. Los especímenes se fijaron en glutaraldehído 3 % (v/v) en 20 mM de buffer fosfato, pH 7, a 4° C durante 12 h. Luego fueron lavados con el buffer durante 1 h y vueltos a fijar en solución acuosa de OsO₄ acuoso 1% (p/v) a 20° C durante 2 h. Las muestras fueron posteriormente lavadas con el mismo buffer durante 1 h, deshidratadas a través de una serie de gradientes de acetona a 20° C, y embebidas en resina Spurr de baja viscosidad (Spurr, 1969). Se obtuvieron secciones transversales ultrafinas usando una cuchilla de vidrio y utilizando un micrótopo de ultracorte Sorvall MT 2-B.

Las secciones fueron colectadas sobre grillas de cobre y contrastadas mediante la coloración doble con acetato de uranilo y citrato de plomo (Reynolds, 1963).

Las secciones fueron examinadas usando un microscopio electrónico de transmisión marca Philips, TEM – EM -301, (Eindhoven, Holanda) del CMA, FCEN, UBA. Se realizaron observaciones de los principales caracteres ultraestructurales de los cuerpos proteicos en muestras control y procesadas.

Microscopio de Fuerza Atómica (MFA)

En el presente estudio esta técnica se utilizó con el propósito de evaluar, respecto del control, e interpretar a nivel nanométrico las modificaciones ocurridas en los cuerpos proteicos debido al tratamiento térmico y de molienda. Para la preparación de los especímenes se tuvieron en cuenta estudios realizados por Baker *et al.* (2000) y Ridout *et al.* (2002). A partir de muestras incluidas en resina Spurr, siguiendo el protocolo detallado anteriormente, se obtuvieron secciones transversales ultrafinas. Las secciones sin colorear fueron colectadas sobre cubre objetos de vidrio y éstos fueron ubicados sobre una película de mica para su observación y posterior detección de imágenes con el microscopio de fuerza atómica (Multimode AFM con un controlador NanoScope III a - Quadrex Digital Instruments - Veeco, Santa Barbara, CA, EE.UU.), CMA, FCEN, UBA. Las imágenes de topografía y amplitud, fueron adquiridas simultáneamente usando el modo “tapping” en presencia de nitrógeno seco. El microscopio contaba con un barredor piezoeléctrico cuyo máximo rango lateral de barrido era de 100 µm. Se usaron “cantilevers” de silicio de 125 µm de longitud para las observaciones en aire, con una frecuencia de resonancia de 300 kHz, y constante elástica de 40 N/m (TAP 300, Nano Devices). La tasa de barrido estaba comprendida entre 1–5 Hz. El tamaño de las áreas de barrido varió entre 40 x 40 µm a 1 x 1 µm.

3.4. Análisis estadístico de los datos de color

Test de Tukey

Con el propósito de establecer si las diferencias del color de las harinas de las tres especies analizadas eran o no significativas, se realizaron pruebas estadísticas de comparación múltiple mediante el Test de Tukey (HSD). Este método aplica el análisis de varianza (ANOVA) para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras, con un nivel de confianza del 95,0 %, es decir, permite discernir entre las medias existiendo un 5,0 % de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a cero. Para ello se utilizaron los valores promedio (medias) de las coordenadas de color (L*, a*, b*), de cada una de las especies estudiadas. Se utilizó el programa Statgraphics® para realizar las

4. RESULTADOS

4.1. *Prosopis alba* Griseb.

4.1.1. Caracteres exomorfológicos

Descripción general

Comprende árboles corpulentos, hasta 15 - 18 m de altura y 1 m de diámetro de fuste, con la copa hemisférica y hasta 10 m de diámetro. Las ramas presentan algunas espinas axilares que no sobrepasan los 4 cm de longitud. La corteza es pardo-grisácea, con fisuras oblicuas. Las hojas son caducas, color verde claro brillante en la primavera y más oscuro y opaco en otoño; 1 – 3 yugas, no mayor de 8 cm de longitud; las pinnas de 6 – 14 cm de longitud, son 25 – 50 yugas. Los folíolos son lineares, rectos o levemente curvos, de 0.5 – 1.7 cm de longitud y 1 – 2 mm de ancho, tienen el ápice generalmente agudo, base asimétrica y nervaduras poco manifiestas. La venación es del tipo pinnada-camptódroma–broquidódroma. Las inflorescencias son racimos espiciformes, densifloros de 7 – 11 cm de longitud. Las flores son blanco-verdosas a amarillentas (Figura 7 A-B).

El fruto es una legumbre indehiscente (lomento), recta a falcada o semicircular, chata, comprimida con los márgenes paralelos manifiestos, estipitada y brevemente acuminada, 12 – 25 cm de longitud, 11 – 20 mm de latitud y 4 – 5 mm de grosor (Figura 8 A). El epicarpo es pajizo-amarillento; el mesocarpo carnoso azucarado y el endocarpo duro, lignificado, este último, forma 12 a 30 artejos rectangulares de aproximadamente 1 cm x 0.6 cm.

Las semillas son elípticas, raramente aovadas, de 4.2 – 7.1 mm de longitud y 2.6 – 3.2 mm de latitud (Figura 8 B).

El área de distribución en Argentina abarca las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Chaco, Entre Ríos, Formosa, Salta, San Juan, San Luis, Santa Fe, Santiago del Estero y Tucumán.

Esta especie es conocida bajo la denominación de diferentes nombres vernáculos: “algarrobo blanco”, “fwayuk” (wichí), “maapik” y “joayuc” (toba), “ibopé morotí”, “igopé” o “ibopé-pará” (guaraní): significa “árbol puesto en el camino para comer”; “yurak-tacú”, “yaná-tacú”, “takku”, “taco juraj” (quechua): significa “el árbol”; “patá” (diaguita); “malumpé” (vilela); “roak” (abipón), “tiwis”

(maskoy) (Roig, 1993b). En el área de estudio los nombre vernáculos más utilizados por las comunidades locales son: “algarrobo blanco”, “taco” y “panta”.

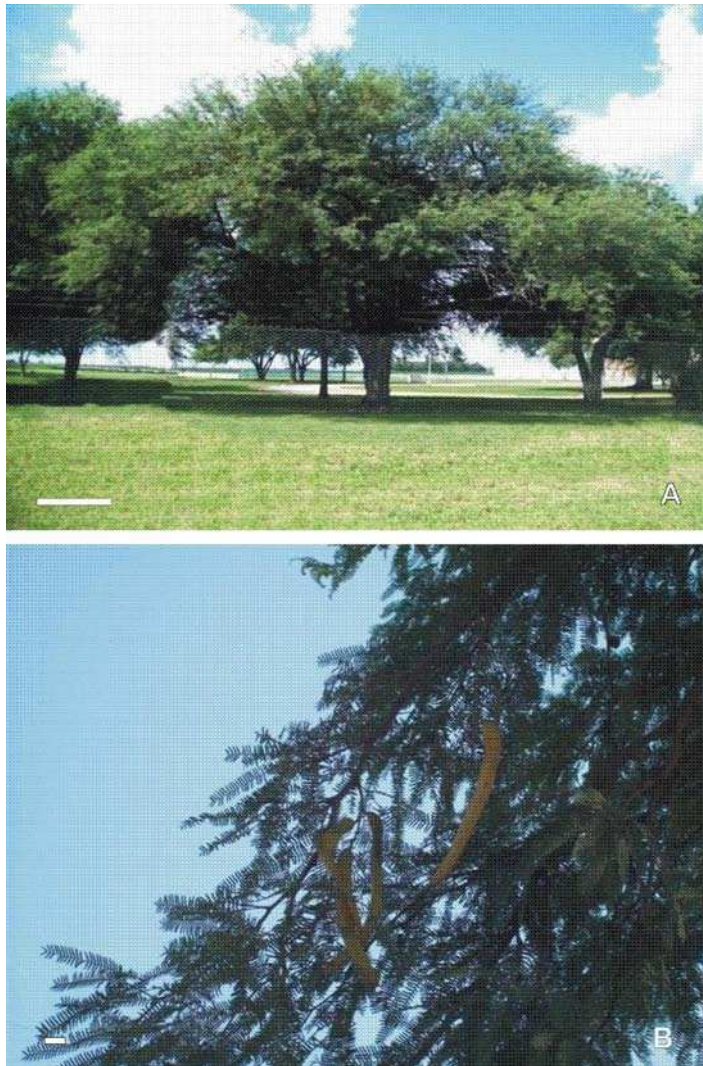


Figura 7. A-B, *P. alba* Griseb., provincia de Córdoba: A, árboles creciendo en la localidad de Calchín; B, ramas con frutos (lomentos) maduros, ejemplar creciendo en la localidad La Playera. Escalas: A = 1,50 m; B = 0,5 cm.

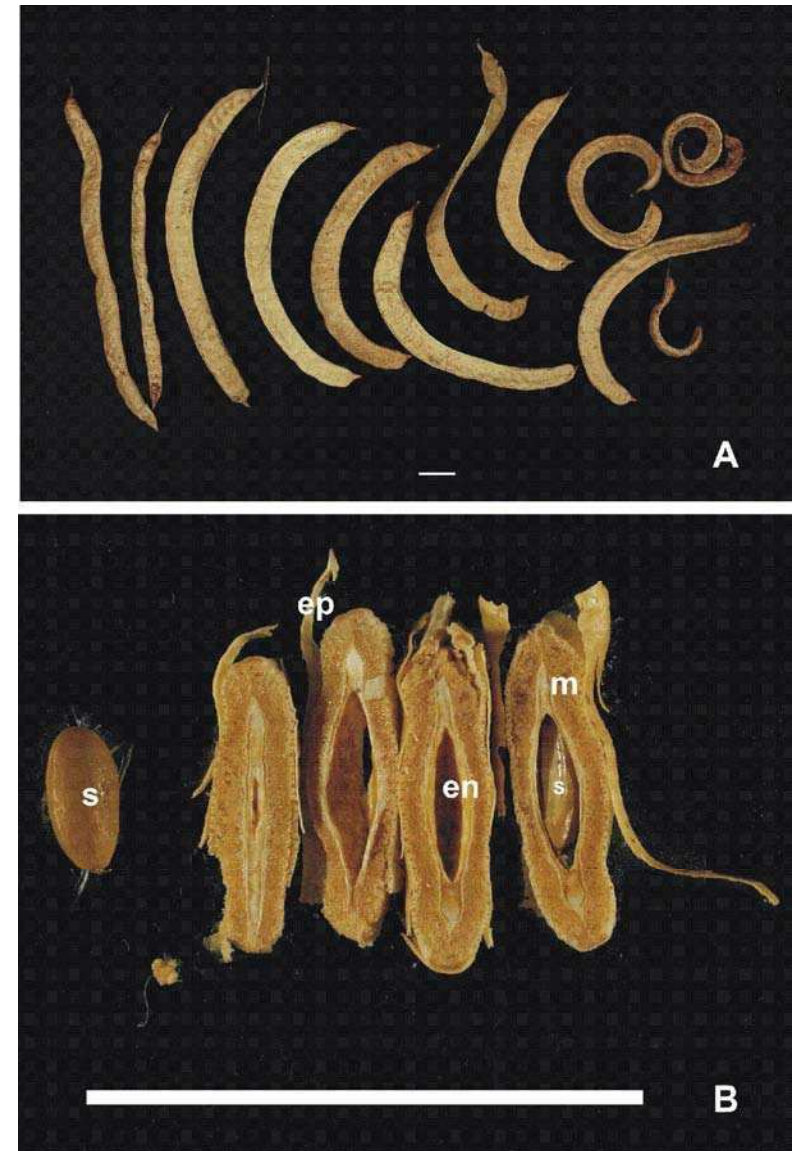


Figura 8. A-B, *P. alba* Griseb.: A, frutos, aspectos generales; B, semilla y frutos, cortes transversales. Escalas: A = 1,3 cm; B = 2 cm

4.1.2. Fruto, semilla y cuerpos proteicos. Caracteres estructurales (micro, ultra)

❖ Fruto

En el área de estudio, la floración ocurre desde fines de septiembre hasta enero; la fructificación, desde fines de noviembre hasta principios de marzo. Los árboles analizados pueden producir de 5 a 40 kg de frutos por año.

Observado con lupa y al MEBA, el fruto de *P. alba* Griseb., en corte transversal, presenta un pericarpo de espesor variable 1,5 - 1,8 mm (Figura 9 A-B; Figura 10 A-D). Está constituido, desde afuera hacia adentro, por el epicarpo, pajizo – amarillento, pluriestratificado, aproximadamente 0,2 – 0,3 mm de espesor; formado por una epidermis uniestratificada, lignificada y conformada por células con paredes visiblemente engrosadas. La epidermis no exhibe tricomas. Hacia el interior se ven 4 – 6 capas subepidérmicas, constituidas por células cuyas paredes están notablemente lignificadas la capa más interna contacta con numerosos haces vasculares secundarios, colaterales, que corren paralelos al eje longitudinal del fruto, se observan además los dos haces marginales y un haz dorsal. Los haces vasculares se ven rodeados parcialmente por conspicuos paquetes de fibras lignificadas, que incompletos, en forma de herradura, se ubican del lado de floema (Figura 9 A-B; Figura 10 A-B). El mesocarpo carnoso y azucarado, es la capa más conspicua del pericarpo, de aproximadamente 0,6 – 1,2 mm de espesor, está constituido por células parenquimáticas transversalmente alargadas, que exhiben paredes engrosadas y visiblemente estriadas (Figura 9 A-B; Figura 10, A, C). El endocarpo es duro, lignificado, tiene un espesor aproximado de 0,2 – 0,3 mm, está constituido por dos a tres zonas: una externa, en contacto con el mesocarpo, una intermedia y una interna. Está constituido por fibras que presentan paredes secundarias engrosadas y lignificadas. Además, el patrón de distribución de las fibras es diferente en cada zona. Generalmente, cuando se observan dos zonas en la zona interna se ven con orientación longitudinal y en la zona externa, con orientación transversal (Figura 9 A-B; Figura 10 A, D).

En los frutos colectados se observa que el endocarpo forma 12 a 30 artejos rectangulares de aproximadamente 1 cm x 0.6 cm y con 12 – 30 semillas por fruto.

En cada artejo se ubica una semilla que en el corte transversal del fruto aparece en vista longitudinal (Figura 9 A).

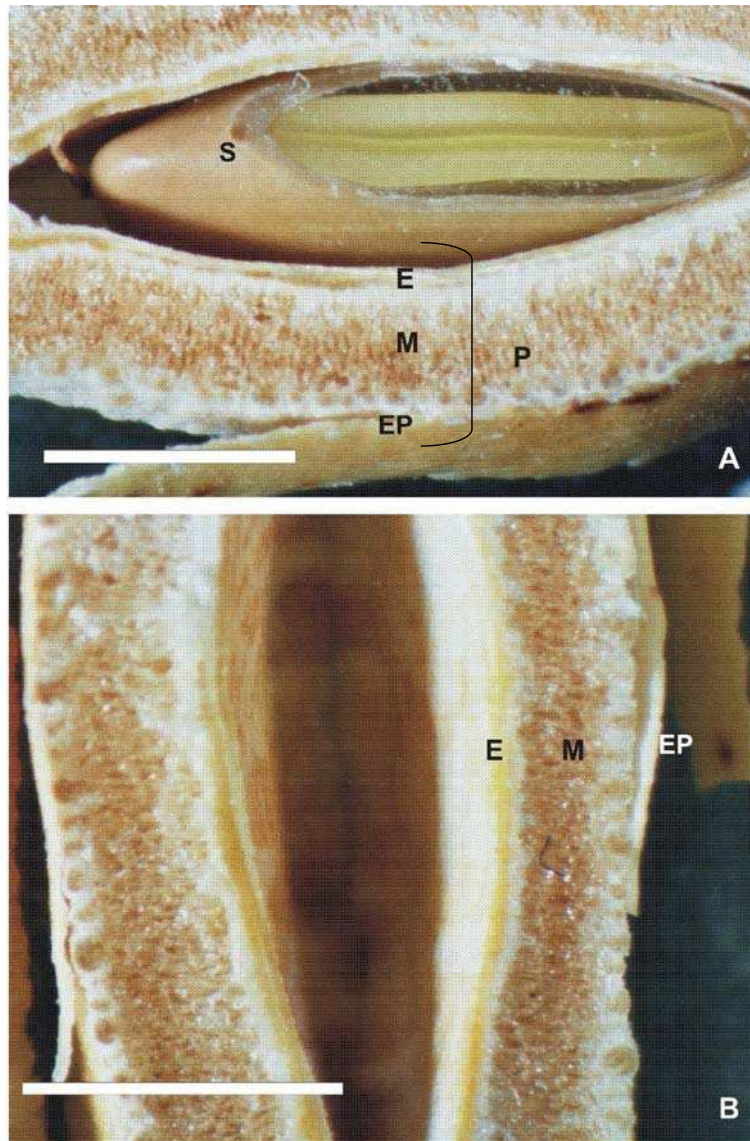


Figura 9. A-B, *P. alba* Griseb., fruto y semilla, observaciones con microscopio estereoscópico o lupa. A, fruto en corte transversal y semilla en corte longitudinal; B, fruto: pericarpo, detalle. E = endocarpo; EP = epicarpo; M = mesocarpo; P = pericarpo; S = semilla. Escalas: 2,5 mm.

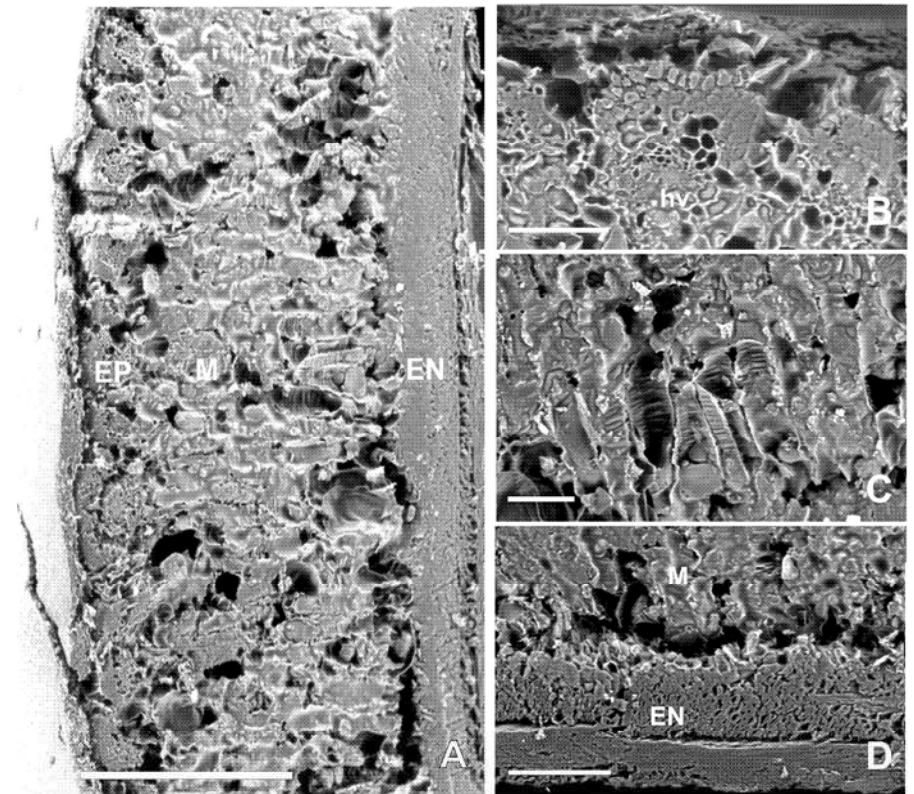


Figura 10. A-D, *P. alba* Griseb., observaciones con MEBA. A, fruto en corte transversal, pericarpo; B, epicarpo con haces vasculares, detalle; C, células del mesocarpo, detalle; D, fibras del endocarpo, detalle. EN = endocarpo; EP = epicarpo; hv = haces vasculares; M = mesocarpo. Escalas: A = 500 μ m; B-C = 100 μ m; D = 200 μ m.

❖ Semilla

En general, se cuentan aproximadamente 27 semillas por fruto. La extracción es difícil, debido a la dureza del endocarpo constituido por fibras lignificadas.

Observadas con lupa, las semillas son elípticas, algo asimétricas, con los bordes redondeados. Exhiben un color castaño claro - amarillento, más o menos brillante. La textura es lisa. Presentan un pequeño umbón en el centro de las caras. El extremo calazal es ancho. El extremo hilar es angosto. El hilo es apical a ligeramente subapical, pequeño circular de igual color o más oscuro que el tegumento seminal externo (testa). El rafe es apical a ligeramente subapical, elíptico, lenticular, blanquecino, de mayor tamaño que el hilo. La micrópila y el hilo se encuentran muy próximos. La línea fisural es en herradura, se observa más clara que el tegumento seminal externo (testa) y presenta los extremos paralelos hacia el extremo hilar. Esta línea fisural rodea al umbón (Figura 11 A, flecha). El tegumento seminal es algo refringente, delgado, con grosor uniforme, color castaño claro - amarillento. El endosperma es córneo, blanquecino, opalino, se ubica a ambos lados de los cotiledones. El embrión es amarillo. Los cotiledones, con una de las caras algo cóncavas y la otra ligeramente convexa, exhiben hacia la base extremos sagitados. El eje del embrión es corto aproximadamente 1,7 mm de longitud (Figura 11 B-E).

La sección longitudinal de la semilla es elíptica, se observa el tegumento seminal hacia el interior y a ambos lados del embrión, se ve el endosperma. El embrión exhibe los dos cotiledones en sección transversal (Figura 11 A)

La semilla, observada con MEBA y en corte transversal, presenta el tegumento seminal constituido por la testa (externa), formada por una capa de macroesclereidas y una segunda capa de osteoesclereidas. El tegmen (interno) consta de varias capas de células reducidas. El endosperma, se ve compuesto por células facetadas (Figura 12 A). Al microscopio óptico, en corte transversal, las células del endosperma poseen paredes primarias reservantes, notablemente engrosadas. La laminilla media, se tiñe intensamente con rojo de rutenio. El citoplasma es denso y ocupa la totalidad del lumen (Figura 13 A-C).

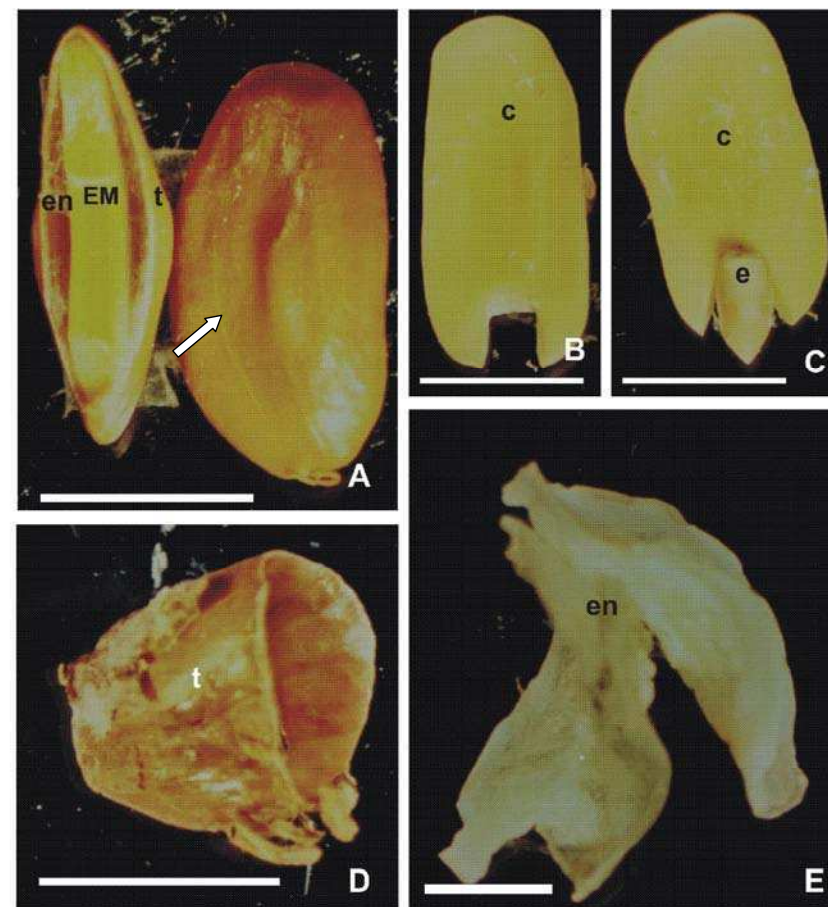


Figura 11. A-E, *P. alba* Griseb., semilla, observaciones con microscopio estereoscópico o lupa, A, semilla en corte longitudinal y en vista superficial; B-C, embrión: B, cotiledón; C, cotiledón y eje; D, tegumento seminal; E, endosperma. c = cotiledón; e = eje; EM = embrión; en = endosperma; t = tegumento seminal. Escalas: A, D = 3mm; B-C = 2,3mm; E = 1,6 mm.

Los cotiledones presentan ambas epidermis (adaxial y abaxial), uniestratificadas, el parénquima reservante, exhibe tres zonas: las dos zonas que están en posición subepidérmica, están constituidas por 2 – 3 capas de células de parénquima reservante alargadas; la zona intermedia restante, está compuesta por células de parénquima reservantes más cortas y con contorno irregular (Figura 12 B-C). Se observa, además, el sistema vascular.

Las células del parénquima reservante de los cotiledones contienen lípidos y cuerpos proteicos. Los lípidos rodean a los cuerpos proteicos y se tiñen de color naranja con Sudán IV (Figura 14 A-B). Los cuerpos proteicos son abundantes, corpusculares y en los cotiledones, principalmente ocupan por completo las células del parénquima reservante (Figura 12 D-F; Figura 14 C-D).

❖ Cuerpos proteicos

Observaciones con MO, MEBA y FESEM

a) control

La observación con microscopio óptico, de preparados histológicos de los cuerpos proteicos de *P. alba*, obtenidos a partir del embrión y montados en agua, permite detectar la presencia de cuerpos corpusculares raramente aislados, generalmente aglutinados, abundantes, formando agregados refringentes, de contorno irregular (Figura 15 A-D).

A partir de material incluido en resina Spurr, los cortes transversales del cotiledón de un embrión control, realizados con ultramicrotomo, de aproximadamente 1µm de espesor y teñidos con azul de toluidina muestran, vistas parciales de células del parénquima reservante con paredes primarias algo engrosadas y refringentes. Se observa, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, refringentes, uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante.

Los cuerpos proteicos exhiben, en general, forma redonda a oblonga y tamaño variable de 0,9 – 5,2 µm. El análisis MEBA-EDX, de los cuerpos proteicos permite conocer la composición mineral de los mismos, detectando la presencia de los siguientes elementos químicos: Mg, Al, P, S, Cl, K y Ca (Figura 17).

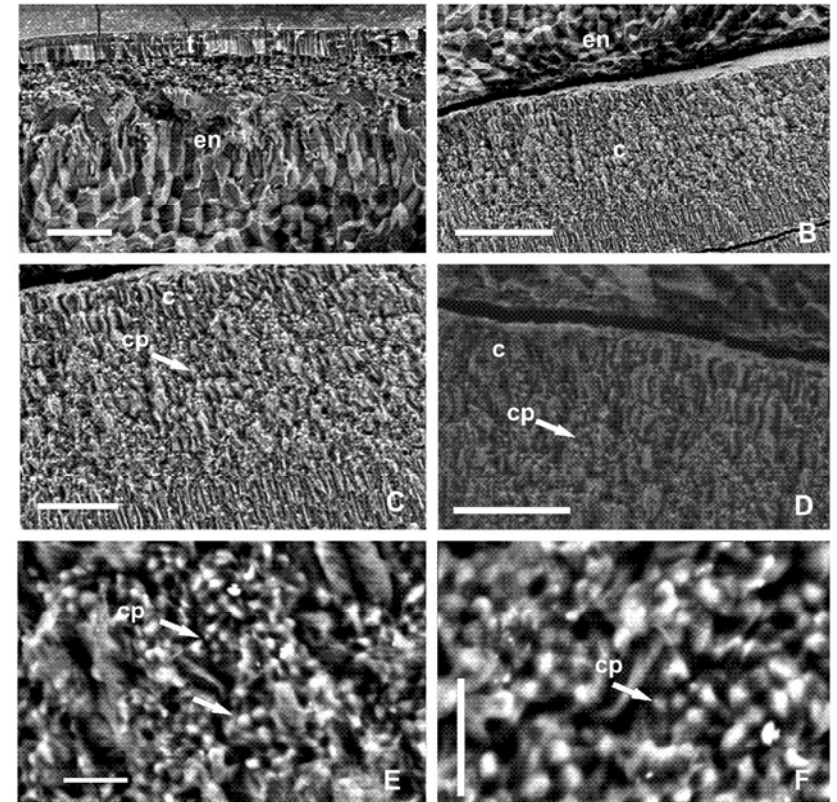


Figura 12. A-F, *P. alba* Griseb., semilla, corte transversal, fruto, observaciones con MEBA: A, fruto: A, tegumento seminal y endosperma; B, endosperma y cotiledones; C-F, células del cotiledón con cuerpos proteicos: C-D, aspectos generales; E-F, detalles. c = cotiledón; cp = cuerpos proteicos; en = endosperma; t = tegumento seminal. Escalas: A, C-D = 100µm; B = 200 µm; E-F = 20 µm.

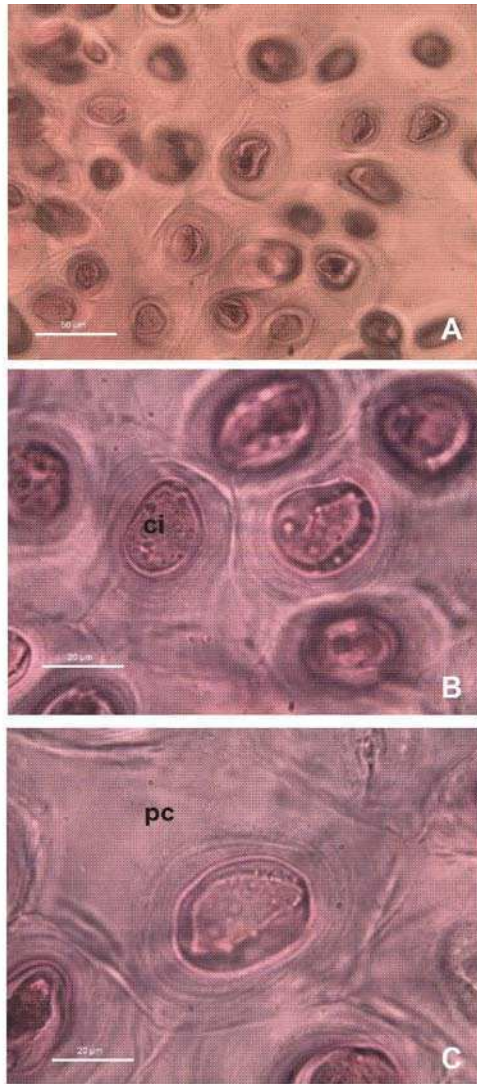


Figura 13. A-C, *P. alba* Griseb., endosperma, ensayo histoquímico (tinción con rojo de rutenio): observaciones con microscopio óptico. ci = citoplasma; pc = pared celular primaria, reservante. Escalas: A = 50 µm; B-C = 20 µm

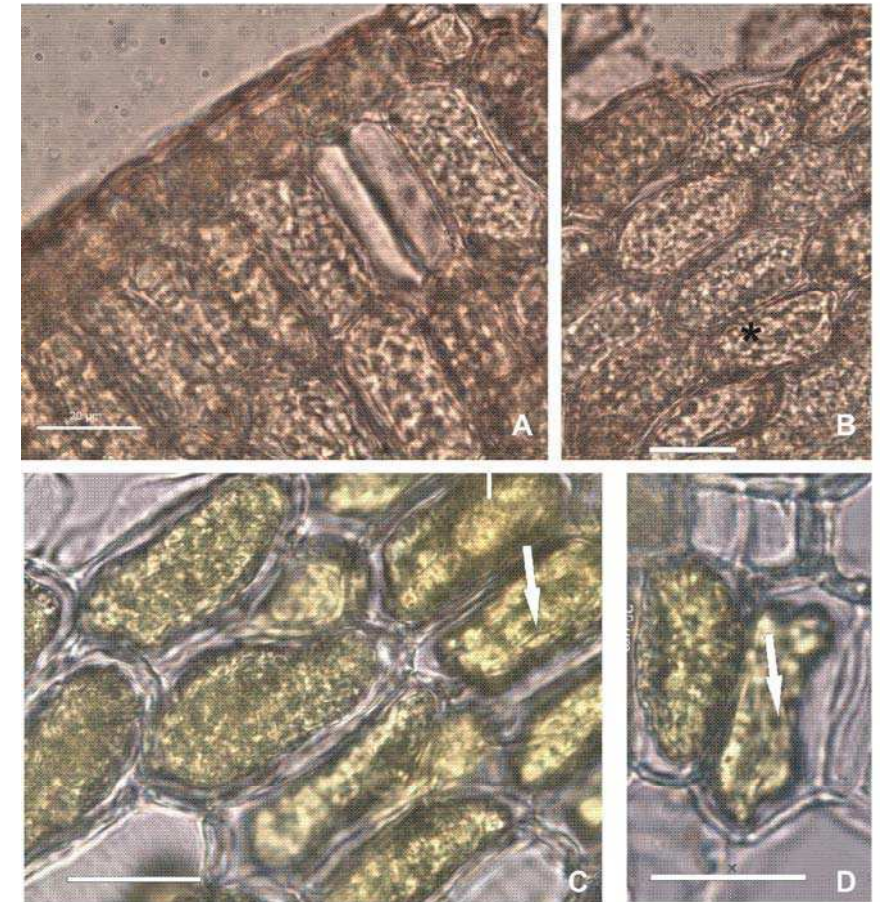


Figura 14. A-D, *P. alba* Griseb., embrión, observaciones con microscopio óptico: A-B, células del cotiledón con lípidos, ensayo histoquímico (tinción con Sudán IV); C-D, células del cotiledón con cuerpos proteicos. Escalas: 20 µm

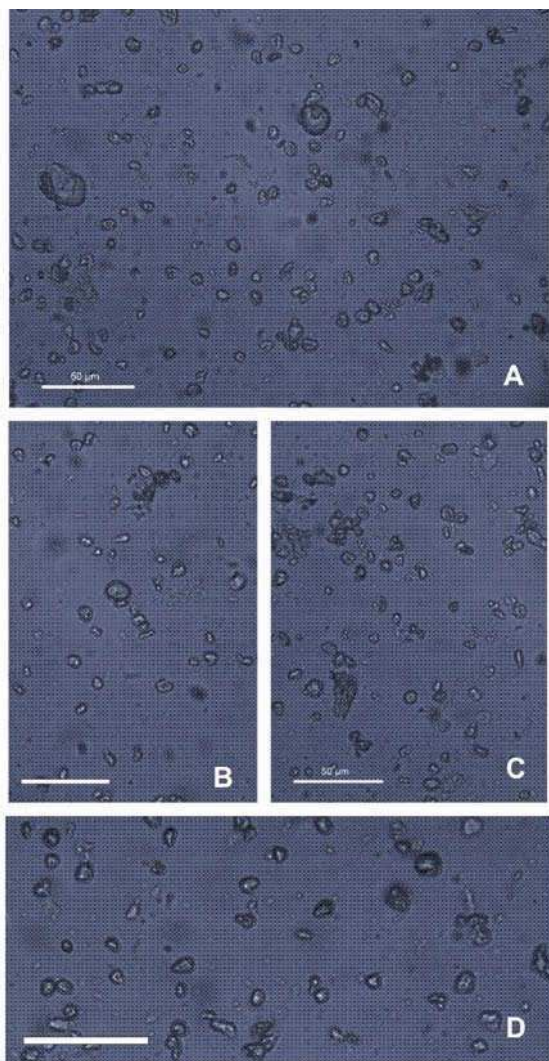


Figura 15. A-D, *P. alba* Griseb., cuerpos proteicos aglutinados, observaciones con microscopio óptico. Escalas: 50 μm .

Para obtener las harinas, los frutos son sometidos a un proceso de secado previo a 60° C de temperatura para luego ser molidos a escala laboratorio con un molinillo a cuchillas. Con el fin de analizar posibles alteraciones en los cuerpos proteicos por efecto de la temperatura y/o por efecto mecánico durante la molienda, se analizan los caracteres estructurales de los mismos.

b) secado a 60° C

La observación de cortes transversales del cotiledón de un embrión secado a 60° C, realizados con ultramicrotomo, partir de material incluido en resina Spurr, de aproximadamente 1 μm de espesor y teñidos con azul de toluidina, muestran vistas parciales de las células del parénquima reservante, axialmente contraídas, con los contornos ligeramente ondulados, paredes primarias engrosadas y signos de baja refringencia, respecto al control. Se observa, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, opacos, uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben contorno poligonal y tamaño menor que el control, de 0,7 – 4, 3 μm (Figura 16 C-D).

c) secado a 60° C y molido

Los cortes transversales del material incluido en resina Spurr, del cotiledón de un embrión secado a 60° C y molido (con molino a cuchilla) durante 15 segundos a velocidad constante, muestran vistas parciales de células del parénquima reservante más o menos isodiamétricas, con presencia de espacios intercelulares triangulares, contornos de las células ondulados y paredes primarias, engrosadas, mayormente no refringentes, raramente poco refringentes. Se observa, además, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben tamaño variable de 0,7 – 3,0 μm , contorno redondeado, forma aproximadamente esférica y puntos visiblemente refringentes en el interior (Figura 16 E-F).

El análisis MEBA-EDX, de los cuerpos proteicos, muestra la composición mineral de los mismos, detectando la presencia de elementos químicos idénticos a los del control: Mg, P, S, Cl, K y Ca (Figura 18 A-C).

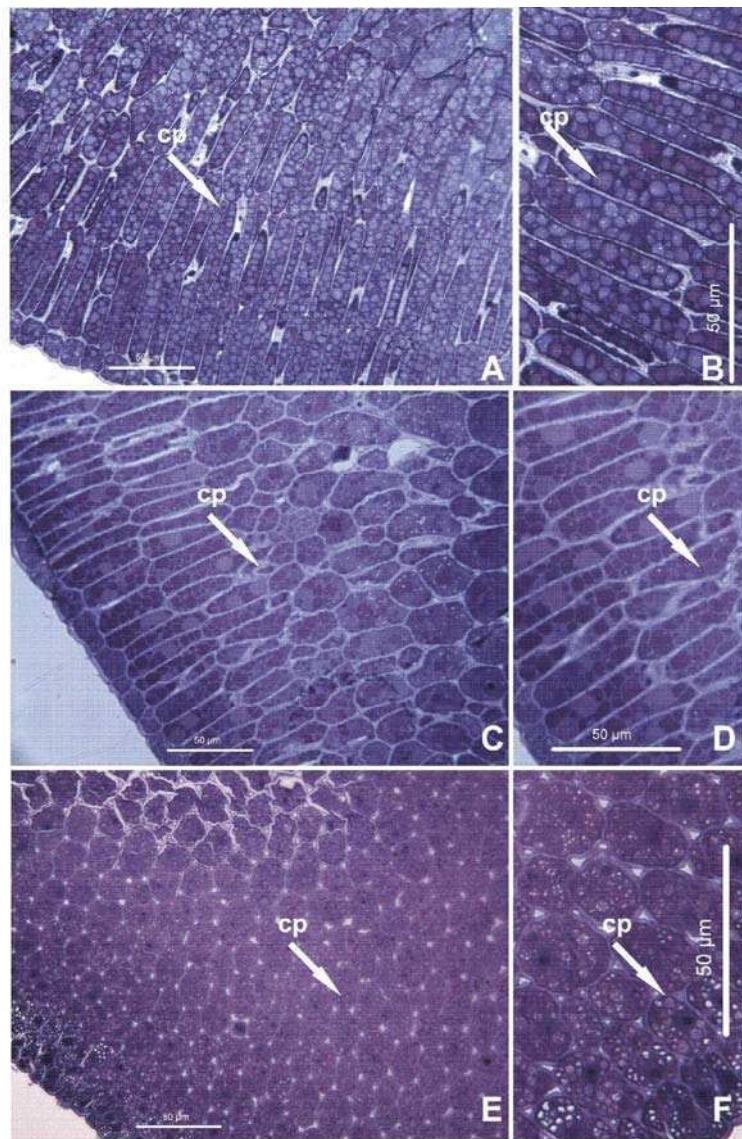


Figura 16. A-F, *P. alba* Griseb., observaciones con microscopio óptico, embrión, corte transversal: cuerpos proteicos en cotiledón. A-B, control; B-C, secado a 60° C; E-F, secado a 60° C y molido. cp = cuerpos proteicos. Escalas: 50 µm.

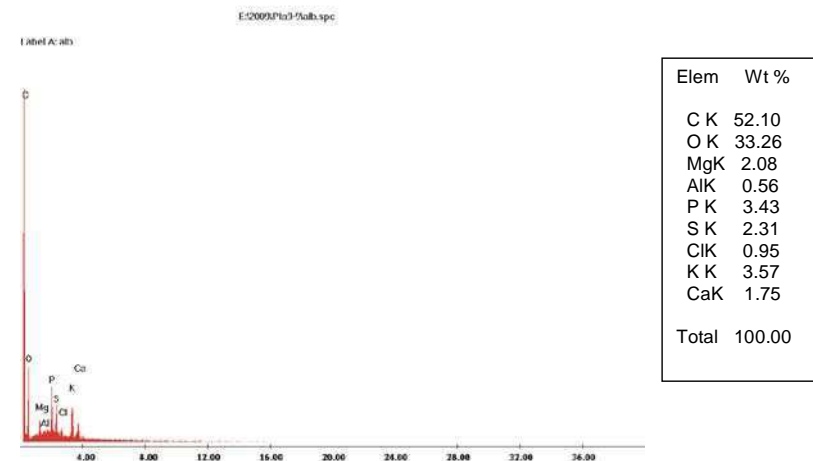


Figura 17. *P. alba* Griseb., MEBA - EDX análisis: espectro de energía característico de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos del cotiledón.

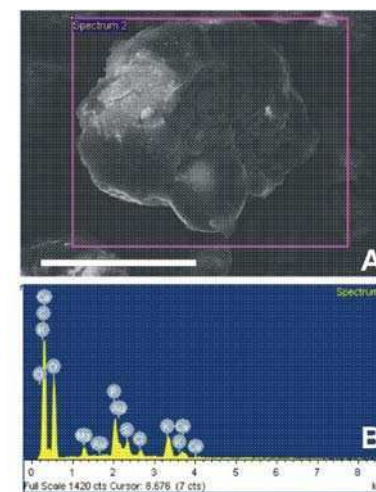


Figura 18. A-C, *P. alba* Griseb., cuerpos proteicos de un cotiledón de un embrión secado a 60° C y molido (con molino a cuchilla) durante 15 segundos, a velocidad constante. MEBA - EDX análisis: A, cuerpo proteico; B, espectro de energía característico de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos del cotiledón; C, valores (%) de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos analizados. Escala: 50 µm.

4.2. *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart

4.2.1. Caracteres exomorfológicos

Descripción general

Comprende árboles corpulentos, con tronco corto, de 3 - 10 m de altura; copa globosa cuando el ejemplar es joven; aparasolada y con la masa foliar dispuesta en estratos, a la madurez. Las ramas son nudosas, parcialmente espinosas, con las espinas, axilares, geminadas, duras, subcónicas hasta 6,0 cm longitud. La corteza, en general, es rojiza, gruesa, rugosa, con fisuras longitudinales profundas, caediza. Las hojas son grandes, péndulas, deciduas, glabras, uni- a bi- o triyugadas, con pinnas de 8,0 – 24,5 cm longitud. Los folíolos en número de 10 a 29 (31) pares por pinna, son lineares, glabros, color verde pálido de 2,4 – 5,4 cm de longitud y 1,1 – 3,0 mm de ancho, con los márgenes lisos y la venación tipo pinnada-camptódroma-broquidódroma.

Las flores blanco verdoso a amarillento están agrupadas en racimos especiformes, densifloros.

El fruto es una legumbre indehiscente (lomento), subleñosa a coriácea, linear, comprimida, con márgenes paralelos, estipitada o acuminada casi recta, falcada o subfalcada, de 12 - 18 (30) cm de longitud y 1,0 – 1,8 cm de latitud, posee un grosor aproximado de 0,6 cm.

Las semillas, color castaño claro tienen 6,0 – 7,0 mm de longitud y 3,4 – 5,1 mm de ancho (Figura 19 A-D, Figura 20 A-B).

Su distribución en Argentina comprende las provincias de Salta, Tucumán, Catamarca, La Rioja, San Juan, Mendoza, San Luis y NO de Córdoba.

Esta especie tolera suelos con moderada salinidad, no anegados. La mayor parte de la superficie del Chaco Árido ha sido sometida a sobrepastoreo y tala excesiva e indiscriminada que ha afectado visiblemente a las poblaciones.

En el país, en las áreas donde crece, es reconocido con los siguientes nombres vernáculos: “algarrobo”, “algarrobo blanco”, “algarrobo de Chile”, “árbol blanco”, “algarrobo panta”. En Bolivia, recibe las denominaciones “tcako” y “cupesi”

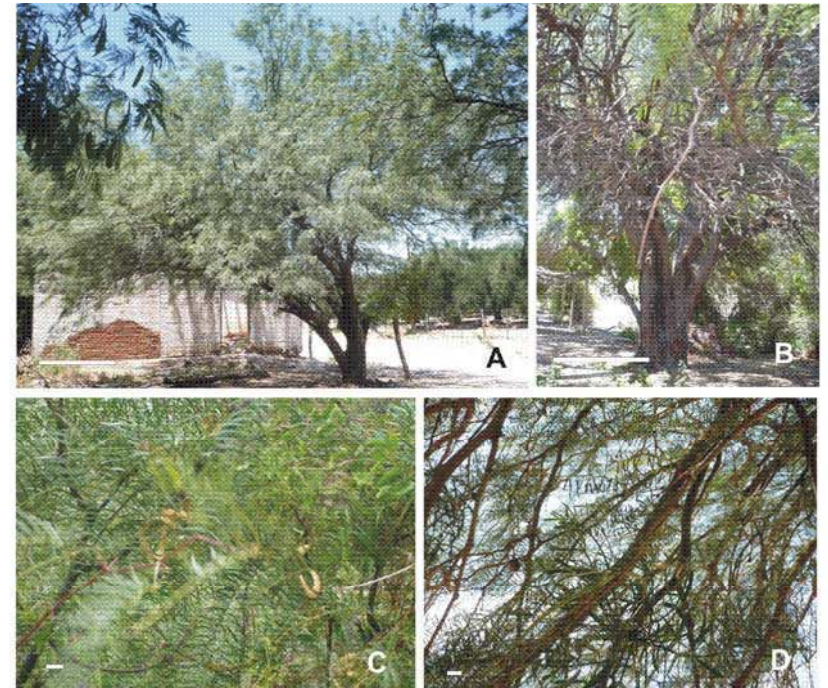


Figura 19. A-E, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, provincia de La Rioja: A-C, árboles creciendo en la localidad de Aimogasta: A-B, aspectos generales; C, ramas con hojas y frutos (lomentos) maduros; D, rama con frutos de un ejemplar creciendo en la localidad de Chepes. Escalas: A = 1,40 m; B = 2 m; C-D = 2,8 cm.

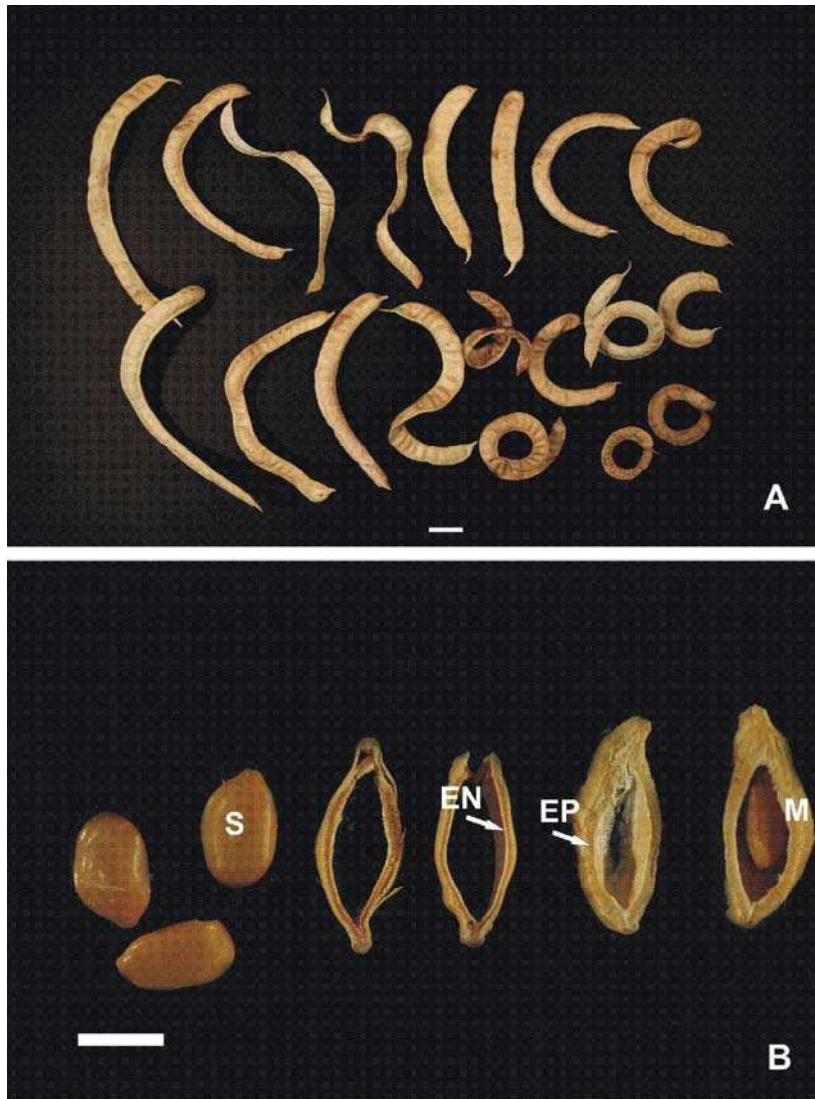


Figura 20. A-B, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, A, frutos: aspecto general; B, semillas y fruto, cortes transversales. EN = endocarpo; EP = epicarpo, M = mesocarpo; S = semilla. Escalas: A = 1,4 cm; B = 4mm.

4.2.2. Fruto, semilla y cuerpos proteicos. Caracteres estructurales (micro, ultra, nano)

❖ Fruto

En el área de estudio, la floración ocurre desde noviembre a enero. La maduración de los frutos comienza dos meses después de la floración desde enero a marzo.

El fruto es un lomento color claro, amarillo, pajizo raramente con manchas oscuras. Observado con lupa y al FESEM el fruto de *P. chilensis*, en corte transversal, presenta un pericarpo de espesor variable 1,5 – 1,9 mm (Figura 21 A-D; Figura 22 A-E). Desde afuera hacia adentro, está constituido por un epicarpo pluriestratificado, aproximadamente 0,06 – 0,09 mm de espesor, está formado por una epidermis uniestratificada, lignificada, conformada por células con paredes visiblemente engrosadas, la epidermis exhibe tricomas rectos, erectos, algo acuminados, de 0,013 mm de largo aproximadamente. Subepidérmicamente se observan 4-5 capas de células, la capa más interna contacta con los haces vasculares colaterales, acompañados por paquetes de fibras lignificadas ubicadas del lado del floema; estos haces vasculares aparecen en vista transversal, indicando que corren paralelos al eje longitudinal del fruto (Figura 22 B). El mesocarpo comestible, es la capa más ancha del pericarpo aproximadamente 0,12 - 1,7 mm de espesor y está constituido por células parenquimáticas, algo alargadas en sentido transversal. En el mesocarpo se observan idioblastos o células visiblemente distendidas (Figura 22 A-D). El endocarpo es la capa más interna, dura, lignificada, con un espesor aproximado de 0,025 – 0,09 mm, constituido por fibroesclereidas distribuidas en capas pluriestratificadas y con un patrón de disposición de las fibras transversal o longitudinal según las capas. En los frutos ensayados, se observa que el endocarpo presenta segmentos transverso-rectangulares, más anchos que largos, subcoriáceos que se abren fácilmente, cuando se intenta separar la semilla ubicada entre cada segmento.

Los frutos presentan 20 - 32 semillas aproximadamente.

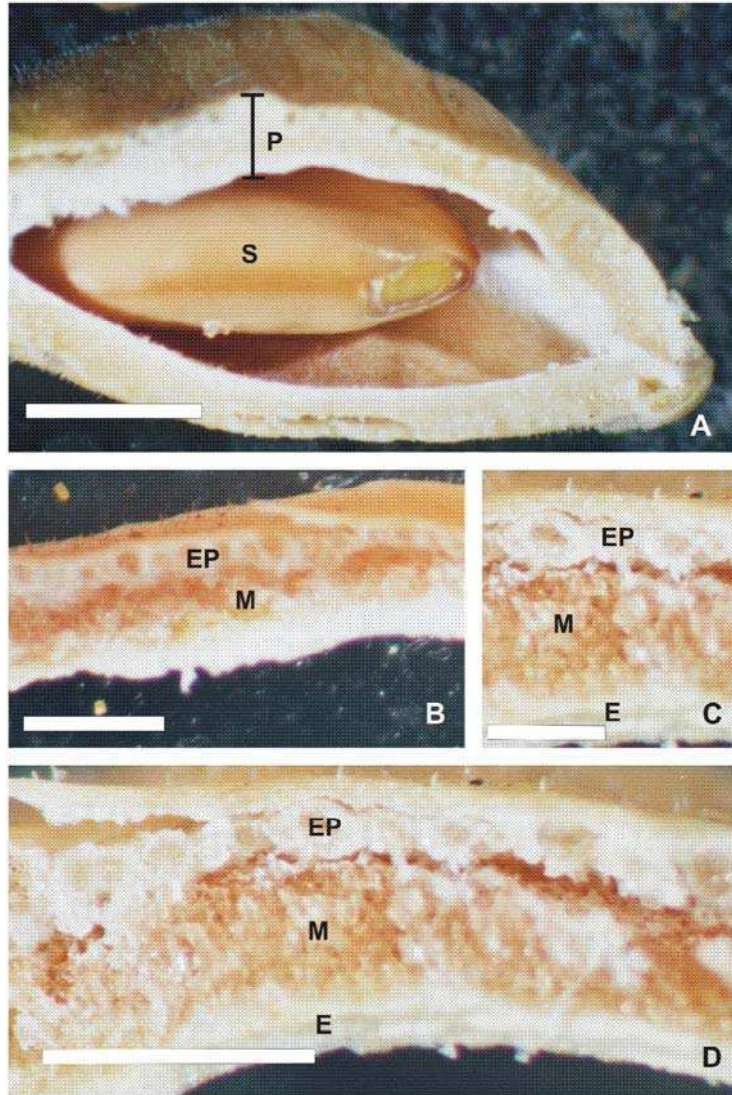


Figura 21. A-B, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, fruto y semilla, observaciones con microscopio estereoscópico o lupa: A, fruto en corte transversal y semilla en corte longitudinal; B, aspecto general; D, detalles. E = endocarpio; EP = epicarpio; M = mesocarpio; P = pericarpio; S = semilla. Escalas: A = 0,3 mm; B, D = 0,24 mm; C = 0,12 mm.

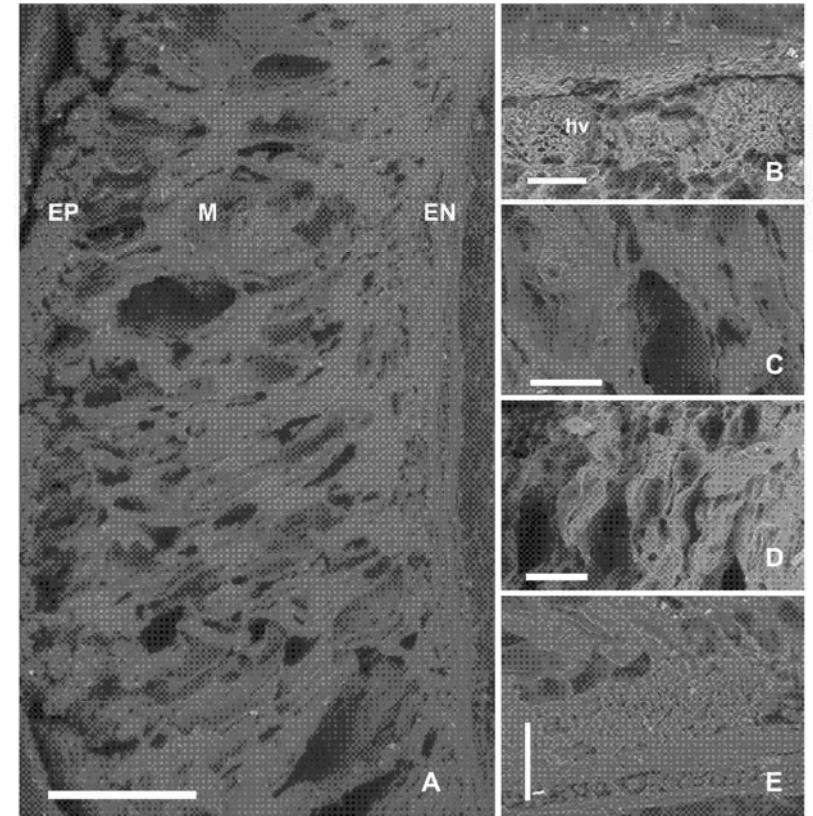


Figura 22. A-E, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, fruto, observaciones con FESEM: A, fruto en corte transversal, pericarpio; B, epicarpio con haces vasculares, detalle; C-D, células del mesocarpio, detalle; E, fibras del endocarpio, detalle. EN = endocarpio; EP = epicarpio; hv = haces vasculares; M = mesocarpio. Escalas: A = 500 μ m; C-D = 200 μ m; B, E = 100 μ m.

❖ Semilla

Las semillas son elípticas, con los bordes redondeados, 5 - 8 mm de longitud, 3,4 - 5,1 mm de ancho y 1,8 - 2,5 mm de espesor. Exhiben un color castaño claro, más o menos brillante y textura lisa. En el centro, presentan un umbón casi imperceptible, rodeado por la línea fisural, ésta última, en herradura y algo más clara que el tegumento seminal externo. El extremo calazal de la semilla es más ancho que el hilar. La sección longitudinal de la semilla, es elíptica, desde afuera hacia el interior exhibe: el tegumento seminal (Figura 23 D), el endosperma que se ubica a ambos lados del embrión y el embrión. El embrión presenta los cotiledones (2) en sección transversal (Figura 23 A). Es de color amarillo con un eje corto (1,6 - 2,1 mm) y los dos cotiledones sagitados en la base (6,1 - 3,2 mm) (Figura 23 B-C). El endosperma es córneo, opalino, blanquecino (Figura 23 A, D-E).

Observada con FESEM y en corte transversal, la semilla consta de: tegumento seminal constituido por la testa (externa) compuesta por una capa de macrosclereidas y una segunda capa de osteosclereidas. El tegmen (interno), compuesto de varias capas de células pequeñas (Figura 24 A-B). El endosperma está formado por varias capas de células alargadas (Figura 24 B-C). Al microscopio óptico (MO), las células del endosperma exhiben paredes primarias reservantes, notablemente engrosadas y refringentes. La laminilla media toma coloración con rojo de rutenio, el citoplasma denso ocupa casi por completo el lumen celular (Figura 25 A-C).

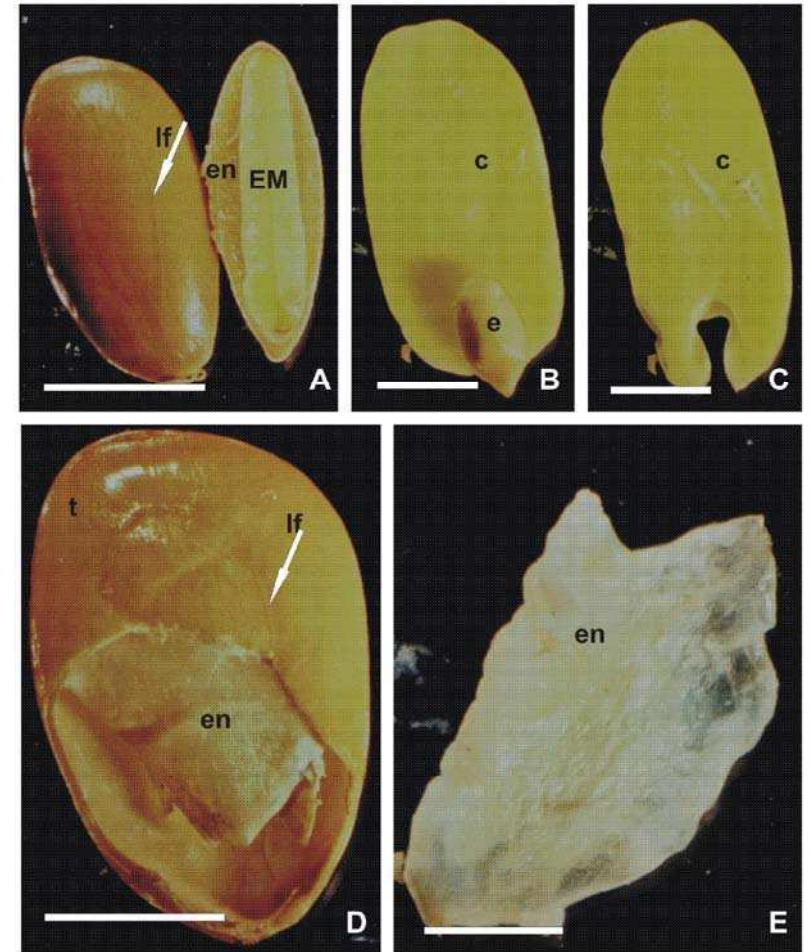


Figura 23. A-E, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, semilla, observaciones con microscopio estereoscópico o lupa: A, semillas en vista superficial y en corte longitudinal; B, embrión; C, cotiledón; D, tegumento seminal y endosperma; E, endosperma. C = cotiledón; e = eje; EM = embrión; en = endosperma; lf = línea fisural; t = tegumento seminal. Escalas: A = 4 mm; B-C, E = 1,75 mm; D = 2 mm.

Los cotiledones presentan ambas epidermis uniestratificadas y en posición intermedia el parénquima reservante está constituido por 2 - 3 capas de células alargadas ubicadas en posición subepidérmica. Las células en posición adaxial son más largas que las abaxiales. La región intermedia del parénquima reservante, está constituida por células más cortas. En todas las células del parénquima reservante se detecta la presencia de lípidos que se tiñen de color naranja con Sudán IV. Los lípidos rodean a los cuerpos proteicos (Figura 24 D-F; Figura 26 A-D). Los cuerpos proteicos son abundantes, corpusculares y llenan las células del parénquima reservante (Figura 24 F; Figura 26 A-D).

❖ Cuerpos proteicos

Observaciones con MO y MEBA

a) control

La observación con microscopio óptico, de preparados histológicos de los cuerpos proteicos presentes en las semillas de *P. chilensis*, obtenidos a partir del embrión y montados en agua, permite detectar la presencia de abundantes cuerpos corpusculares, agregados o aislados, refringentes (Figura 27 A-F).

A partir de material incluido en resina Spurr, los cortes transversales de aproximadamente 1 µm de espesor, del cotiledón de un embrión control, fueron realizados con ultramicrotomo y teñidos con azul de toluidina. Se observan, vistas parciales de células del parénquima reservante con paredes primarias algo engrosadas y refringentes. Estas células presentan contornos ondulados y delimitan entre sí espacios intercelulares en general, irregulares de tamaño variable, raramente triangulares.

En el interior de las células se observa, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, refringentes, uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben, en general, forma redonda a oblonga, tamaño variable de 0,6 – 7,5 µm (Figura 28 A-B). El análisis MEBA-EDX, de los cuerpos proteicos permite conocer la composición mineral de los mismos, detectando la presencia de los siguientes elementos químicos: Mg, Al, P, S, Cl, K y Ca (Figura 29).

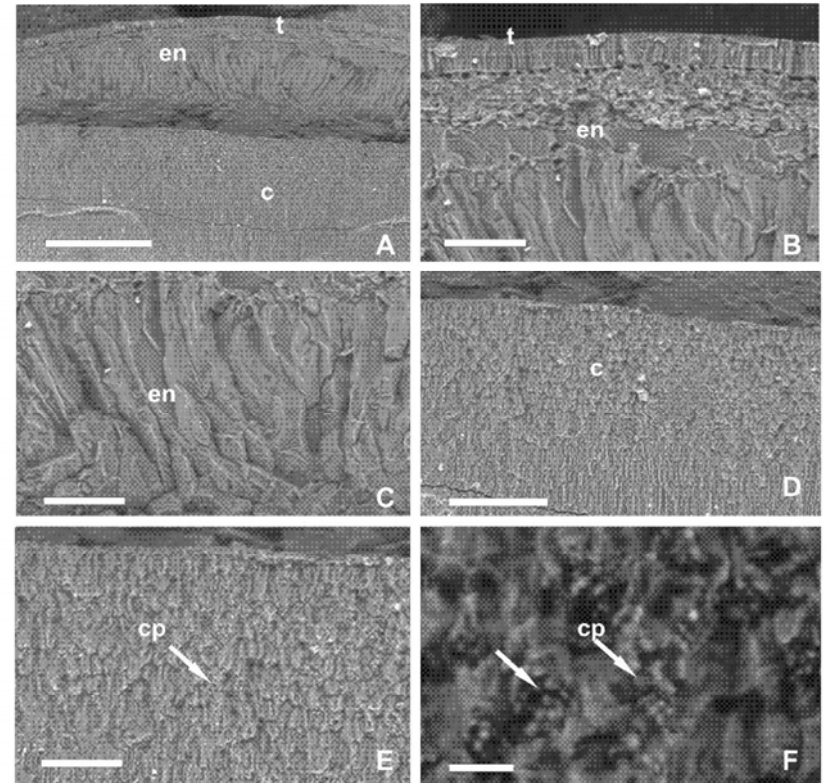


Figura 24. A-F, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, semilla en corte transversal, observaciones con FESEM: A, tegumento seminal, endosperma y cotiledones; B, tegumento seminal y endosperma; C, endosperma; D-F, células del cotiledón con cuerpos proteicos: D-E, aspectos generales; F, detalle. c = cotiledón; cp = cuerpos proteicos; en = endosperma; t = tegumento seminal. Escalas: A = 500 µm; B-C, E = 100 µm; D = 200 µm; F = 20 µm.

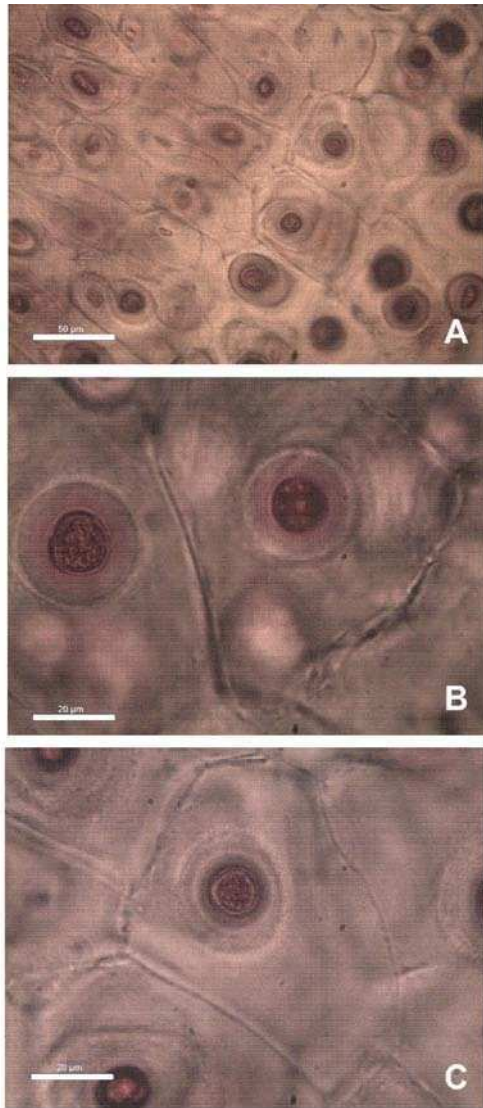


Figura 25. A-C, *P. chilensis* Molina Stuntz emend. Burkart, semillas: endosperma, (tinción con rojo de rutenio), observaciones con microscopio óptico. Escalas: A = 50 µm; B-C = 20 µm.

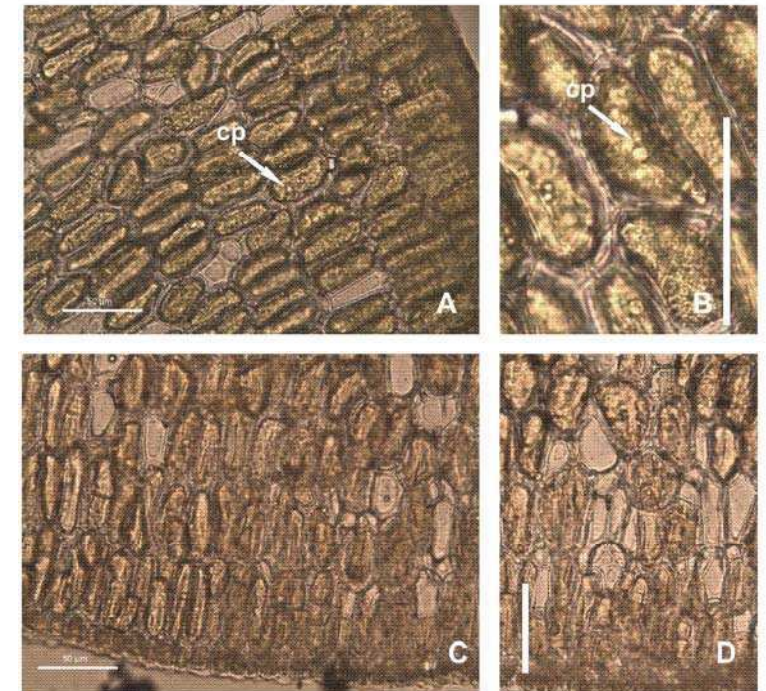


Figura 26 A-D, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, embrión, ensayos histoquímicos, observaciones con microscopio óptico: A-B, células del cotiledón con cuerpos proteicos (ácido pícrico); C-D, células del cotiledón con lípidos (tinción con Sudán IV). cp = cuerpo proteico. Escalas: 50 µm.

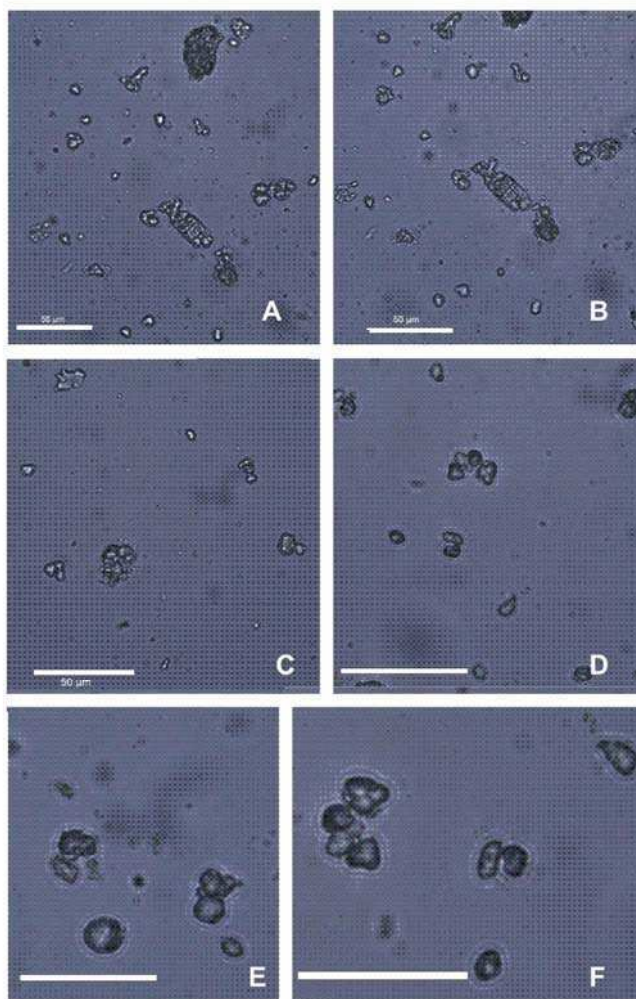


Figura 27. A-F, *P. chilensis* Molina Stuntz emend. Burkart, cuerpos proteicos, observaciones con microscopio óptico. Escalas: 50 µm.

Para obtener las harinas, los frutos son sometidos a un proceso de secado previo a 60° C de temperatura para luego ser molidos a escala laboratorio con un molinillo a cuchillas. Con el fin de analizar posibles alteraciones en los cuerpos proteicos por efecto de la temperatura y/o por efecto mecánico durante la molienda, se analizan los caracteres estructurales de los mismos.

b) secado a 60° C

La observación de cortes transversales del cotiledón de un embrión secado a 60° C, realizados con ultramicrotomo, a partir de material incluido en resina Spurr, de aproximadamente 1µm de espesor y teñidos con azul de toluidina, muestran vistas parciales de las células del parénquima reservante. Estas células son más o menos isodiamétricas, cuando axialmente alargadas, son más bien cortas, presentan contornos ligeramente ondulados, paredes primarias algo engrosadas, con signos de refringencia y las células delimitan entre sí, escasos espacios intercelulares. Se observa, además, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, opacos, uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben contorno poligonal y tamaño, mayor que el control, de 1,5 – 9,6 µm (Figura 28 C-D).

c) secado a 60° C y molido

Los cortes transversales del material incluido en resina Spurr, del cotiledón de un embrión secado a 60° C y molido (con molino a cuchilla) durante 15 segundos, a velocidad constante, muestran vistas parciales de células del parénquima reservante, algunas isodiamétricas, otras, con el contorno irregularmente replegado y con presencia de espacios intercelulares irregulares reducidos. Las células exhiben paredes primarias, engrosadas, mayormente refringentes, raramente poco refringentes. Se observa, además, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben tamaño variable de 1,6 – 5,8 µm, contorno poligonal, con puntos visiblemente refringentes en el interior (Figura 28 E-F).

El análisis MEBA-EDX, de los cuerpos proteicos de un cotiledón de un embrión secado a 60° C y molido (con molino a cuchilla) durante 15 segundos,

a velocidad constante, muestra la composición mineral de los mismos, detectando la presencia de los elementos químicos: Mg, P, S, Cl, K y Ca. Se advierte la ausencia del elemento Al, detectado en el control (Figura 30 A-C).

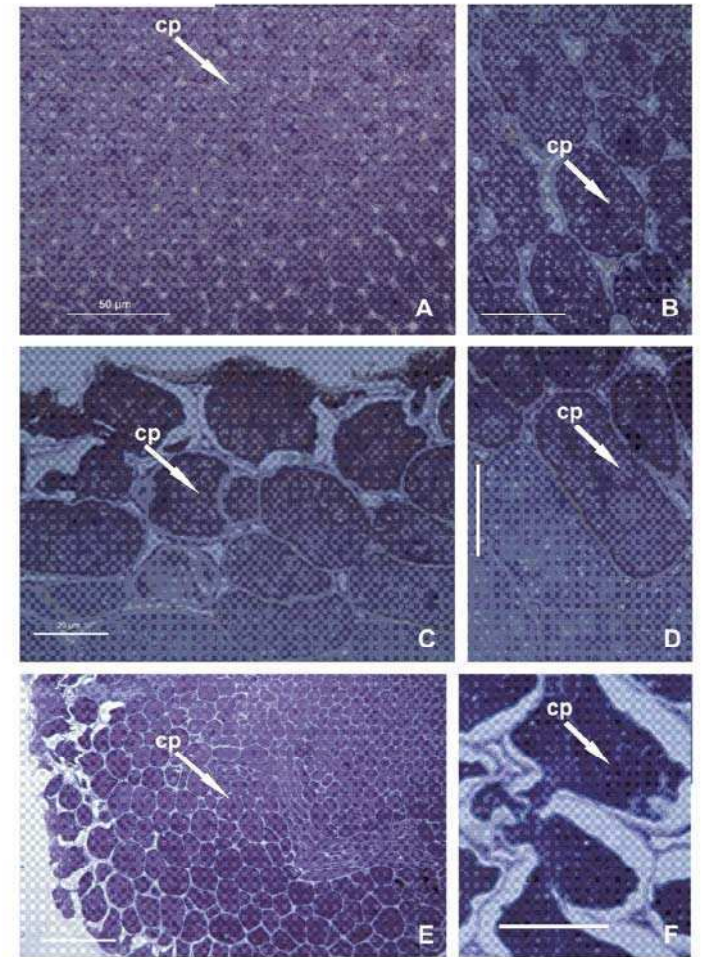


Figura 28. A-F, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, observaciones con microscopio óptico, embrión, corte transversal: cuerpos proteicos en cotiledón: A-B, control; B-C, secado a 60° C; E-F, secado a 60° C y molido. cp = cuerpos proteicos. Escalas: A, E = 50 µm; B-D, F = 20 µm.



Figura 29. *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, MEBA - EDX análisis: espectro de energía característico de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos del cotiledón.

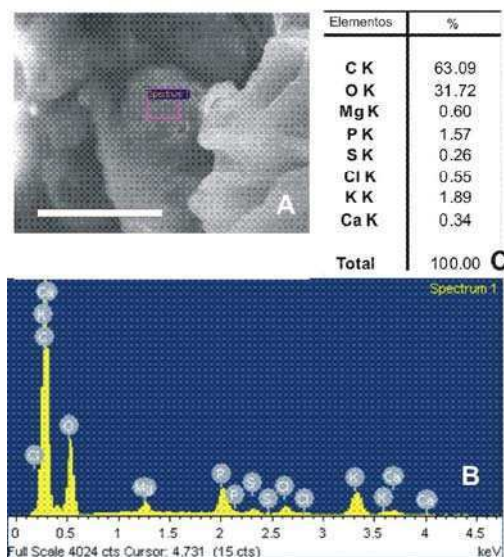


Figura 30. A-C, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, molienda, fracción < 350 μ m, MEBA - EDX análisis: A, cuerpo proteico; B, espectro de energía característico de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos del cotiledón; C, valores (%) de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos analizados.

Observaciones con MET

a) control

La observación al MET de cortes transversales de las células reservantes del cotiledón de embrión procedente de semillas control, documenta una vista parcial de dos células contiguas conteniendo cuerpos proteicos oblongos y la pared celular primaria con trayectoria ligeramente ondulante (Figura 31 A).

Los cuerpos proteicos, exhiben una membrana, una matriz proteica amorfa e inclusiones minerales. La membrana es simple, tiene un espesor aproximado de 68 - 136 nm con márgenes electrónicamente poco densos y una interfase translúcida. La matriz proteica se caracteriza por presentar zonas electrónicamente densas que alternan con otras más translúcidas, con trayectoria continua y sinuosa. En la matriz proteica se observan además (1 - 2) áreas translúcidas, oblongas. Entre los cuerpos proteicos se ubican los lípidos (Figura 31 B-D).

b) secado a 60° C

Con el fin de analizar posibles alteraciones ultraestructurales en los cuerpos proteicos por efecto del proceso secado se analizan cortes transversales de cotiledón de embriones de semillas provenientes de frutos secados a 60° C, se observa que los cuerpos proteicos adquieren contorno irregular a veces ondulado. Se ven más próximos entre si y con la zona de lípidos algo reducida. La membrana del proteinoplasto, exhibe márgenes con mayor contraste electrónico y una interfase translúcida aparentemente distendida, respecto del control. El espesor aproximado es de 88 - 147 nm. La matriz proteica presenta una densidad electrónica semejante al control. En ella, se documenta la presencia de áreas oblongas a redondeadas electrónicamente translúcidas, más grandes que las observadas en el control y en número variable (3 - 5), (Figura 32 A-C).

c) secado a 60° C y molido

Cortes transversales de cotiledón de embriones de semillas provenientes de frutos secados a 60° C y molidos con molino a cuchillas durante 15

segundos a velocidad constante, evidencian la presencia de cuerpos proteicos poligonales, visiblemente delimitados, compactados entre si. La zona de los lípidos se observa muy reducida. La membrana del cuerpo proteico con los márgenes electrónicamente densos y la interfase translúcida, presenta áreas localmente más distendidas. El espesor aproximado es de 97,4 nm en zonas no distendidas y 304,3 nm en los sectores más distendidos. La matriz proteica es electrónicamente densa y presenta áreas reducidas, de contorno irregular y en número variable (3 - 5) (Figura 33 A-D, flecha).

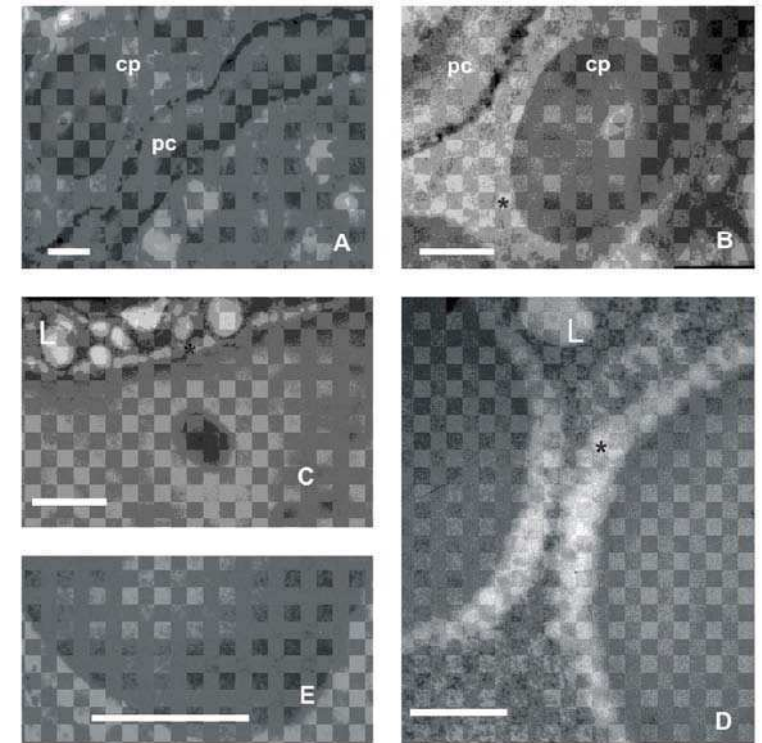


Figura 31. A-E, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, control, observaciones con MET: A, cotiledón: vista parcial de dos células contiguas conteniendo cuerpos proteicos; B, cuerpo proteico, aspecto general; C-E, cuerpos proteicos, detalles: C-D, vistas parciales de la membrana del cuerpo proteico, presencia de lípidos en la interfase entre dos proteinoplastos; E, proteína, detalle. * = membrana; cp = cuerpo proteico, L = lípidos; pc = pared celular. Escalas: A = 540 nm; B-C, E = 440 nm; D = 340 nm.

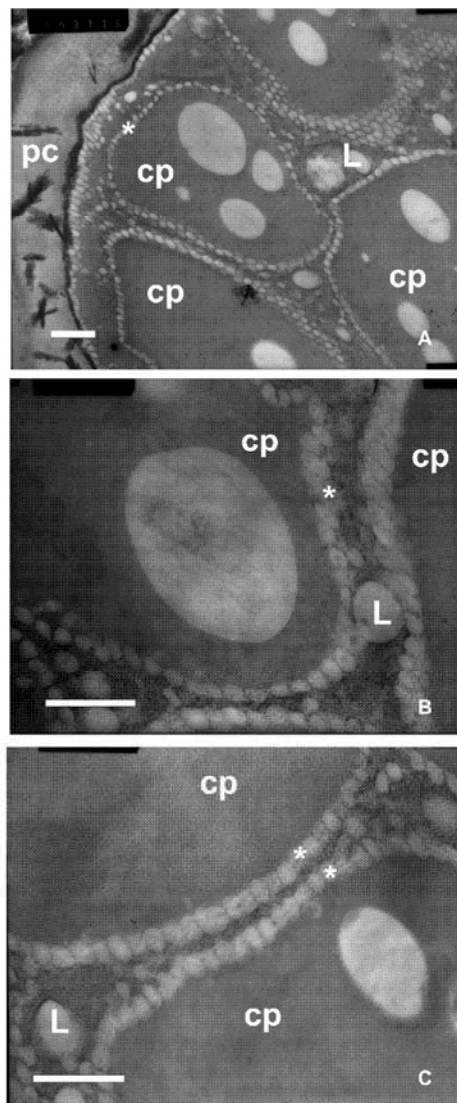


Figura 32. A-C, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, fruto secado a 60° C, observaciones con MET: A, cotiledón: vista parcial de una célula conteniendo cuerpos proteicos; B-C, vistas parciales de los cuerpos proteicos y de los lípidos presentes en la interfase entre proteinoplastos. * = membrana del proteinoplasto; cp = cuerpo proteico, L = lípidos; pc = pared celular. Escalas: A = 540 nm; B-C = 440 nm.

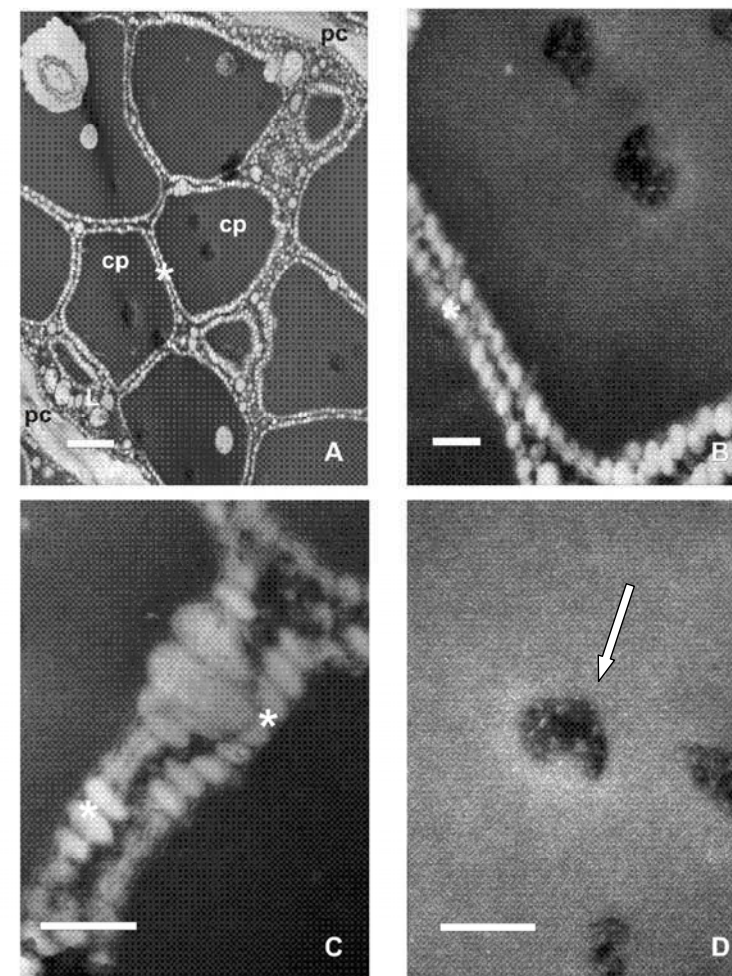


Figura 33. A-D, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, fruto secado a 60° C y molido, observaciones con MET: A, cotiledón: vista parcial de una célula conteniendo cuerpos proteicos; B-C, vistas parciales de los cuerpos proteicos; D, proteína. * = membrana del proteinoplasto; cp = cuerpo proteico; L = lípidos; pc = pared celular. Escalas: A = 1000 nm; B = 220 nm; C = 280 nm; D = 340 nm.

Respecto del control, la matriz proteica luego del proceso (secado a 60 ° C y molido) registra ciertas alteraciones. En el control, la matriz proteica es visible, electrónicamente poco densa, abundante, profusa y delimita microporos electrónicamente más densos, algunos pequeños, de forma irregular y otros, alargados y de tamaño variable (Figura 34 A). Luego del secado a 60° C, el polipéptido modifica su aspecto ultraestructural. Se ve como un dominio más profuso, evidente, aparentemente dilatado y con los microporos algo reducidos (Figura 34 B). Luego del secado a 60° C y molido la proteína al MET aparece como un dominio, profusamente ramificado, más contraído, conformando una red conspicua ramificada sin patrón definido y delimitando microporos y microfracturas de forma y tamaño variables (Figura 34 C, flecha).

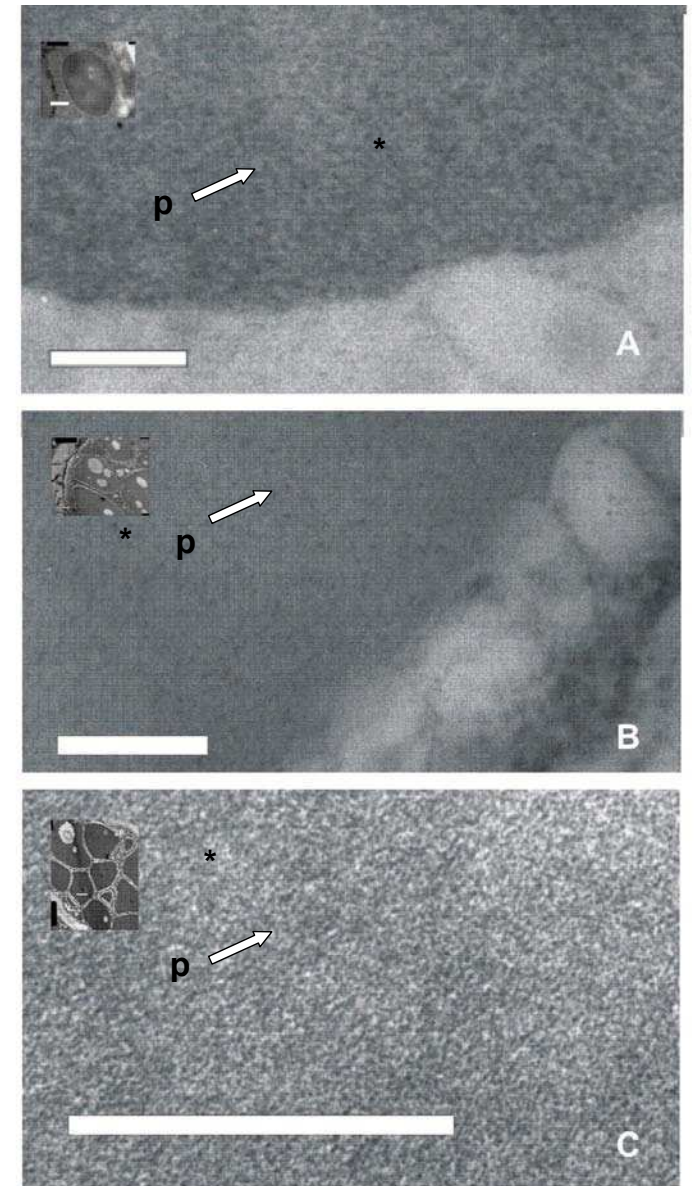


Figura 34. A-C, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, proteína, observaciones con MET: A, control; B, secado; C, secado-molido. * = microporos; p = proteína. Escalas: A = 440 nm; B = 140 nm; C = 340 nm.

Observaciones con MFA

a) control

Las observaciones con microscopio de fuerza atómica (MFA) de cortes transversales del cotiledón de embrión de semillas control, permiten analizar los cuerpos proteicos desde el punto de vista nanoestructural.

Imágenes topográficas y en modo señal de error tomadas en áreas de 40 x 40 µm y 15 x 15 µm evidencian células de parénquima reservante del cotiledón con numerosos cuerpos proteicos en el interior de aproximadamente 4,3 – 6,0 µm (Figura 35 A-D). Imágenes tomadas en áreas de 5 x 5 µm y 2 x 2 µm, muestran vistas parciales de la matriz proteica, densa y con escasos nanoporos (Figura 35 E-H).

Imágenes topográficas, en modo señal de error y la representación 3 D de la matriz proteica, en áreas 1 x 1 µm, muestran la trama densa del polipéptido, éste último forma agregados de 210,5 – 273,7 nm de ancho con un recorrido ondulante y con la presencia de nanoporos irregulares, reducidos, de aproximadamente, 105,0 – 231,0 nm de ancho (Figura 36 A-C).

b) secado a 60° C y molido

La observación con MFA de cuerpos proteicos de muestras de cotiledón de semillas de frutos sometidos a secado a 60° C y molidos, permite obtener imágenes topográficas y en modo señal de error tomadas en áreas de 40 x 40 µm. Se evidencia la presencia de células de parénquima reservante del cotiledón con numerosos cuerpos proteicos apretadamente dispuestos en el interior. Las células presentan las paredes rotas. Los cuerpos proteicos presentan un tamaño aproximado de 3,2 – 5,3 µm (Figura 37 A-B). Imágenes topográficas, tomadas en áreas de 15 x 15 µm, 5 x 5 µm, 3 x 3 µm y 2 x 2 µm, muestran vistas parciales de la matriz proteica, visiblemente fracturada, con el polipéptido ramificado, conformando un patrón de disposición paralelo y alineado, con agregados de 150,0 – 562,0 nm de ancho. Abundantes nanofracturas extendidas de tamaño variable 37,5 nm – 150,0 nm recorren la matriz proteica (Figura 37 C-F).

Imágenes topográficas, en modo señal de error y la representación 3 D de la matriz proteica en áreas 1 x 1 µm y 2 x 2 µm, muestran una vista parcial

de la matriz proteica alterada, con un patrón de disposición paralelo de los agregados de 312,0 – 437,0 nm de ancho, separados entre sí por nanofracturas extendidas, de aproximadamente 25,0 – 100,0 nm de ancho (Figura 38 A-C; Figura 39 A-F).

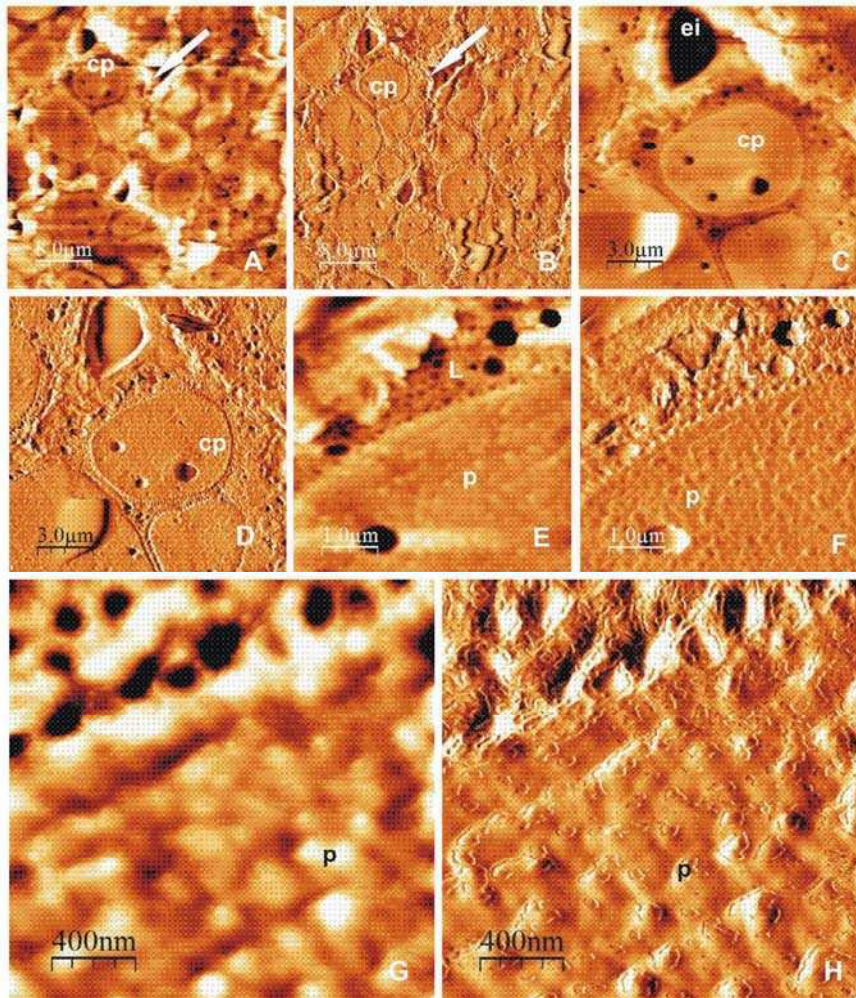


Figura 35. A-H, *P chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, control: cuerpos proteicos, cortes transversales del cotiledón, observaciones con MFA: A, C, E, G, imágenes topográficas; B, D, F, H, imágenes en modo señal de error: A-B, células del cotiledón con cuerpos proteicos y lípidos; C-H, cuerpos proteicos, detalles. cp = cuerpos proteicos; ei = espacio intercelular; flecha = célula del cotiledón; L = lípidos; p = proteína. Áreas de imágenes: A-B = 40x40 µm; C-D = 15x15 µm; E-F = 5x5 µm; G-H = 2x2 µm.

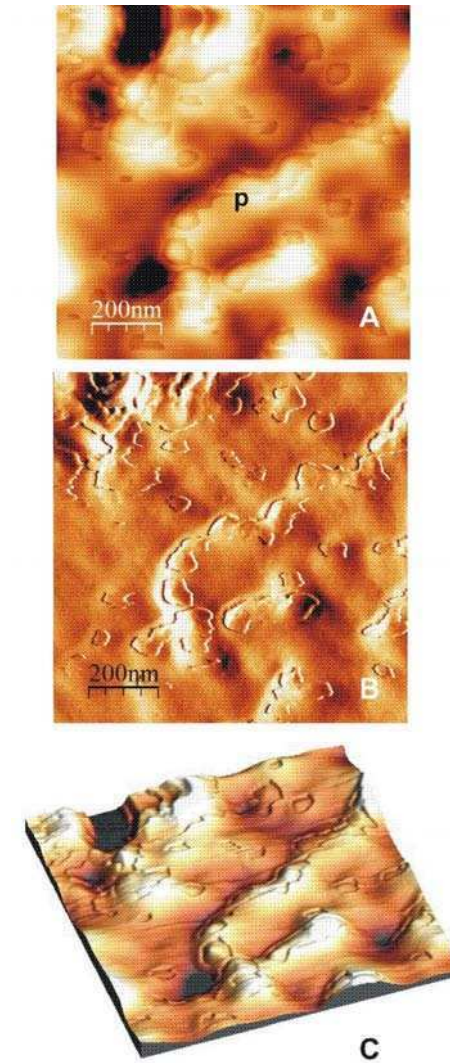


Figura 36. A-C, *P chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, control: proteína, cuerpos proteicos en cortes transversales, observaciones con MFA: A, imagen topográfica; B, imagen en modo señal de error. C, imagen en 3D. p = proteína. Áreas de imágenes: A-C = 1x1 µm.

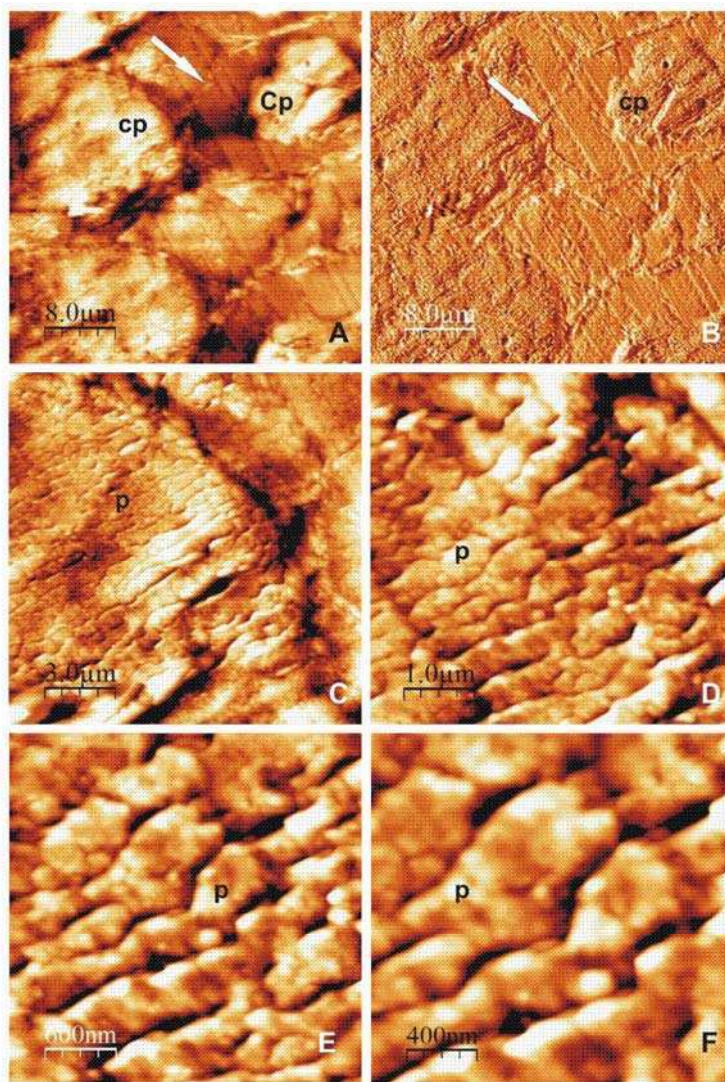


Figura 37. A-F, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, secado y molido: cuerpos proteicos, cortes transversales del cotiledón, observaciones con MFA: A, C-F, imágenes topográficas; B, imagen en modo señal de error. A-B, células del cotiledón con cuerpos proteicos; C-F, proteína, detalles. cp = cuerpos proteicos; flecha = pared celular, célula del cotiledón; p = proteína. Áreas de imágenes: A-B = 40x40 μm; C = 15x15 μm; D = 5x5 μm; E = 3x3 μm; F = 2x2 μm.

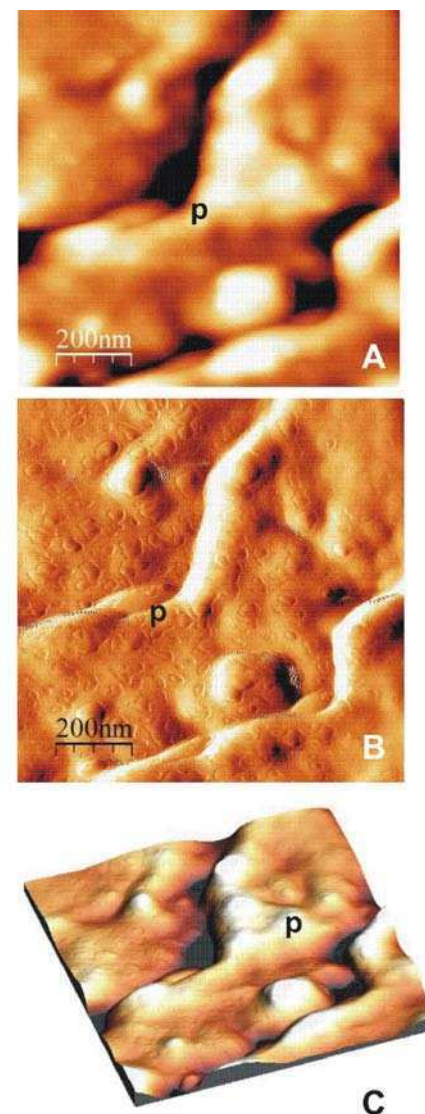


Figura 38. A-C, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, secado y molido: proteína, cuerpos proteicos en cortes transversales, observaciones con MFA: A, imagen topográfica; B, imagen en modo señal de error. C, imagen en 3D. p = proteína. Áreas de imágenes: A-C = 1x1 μm.

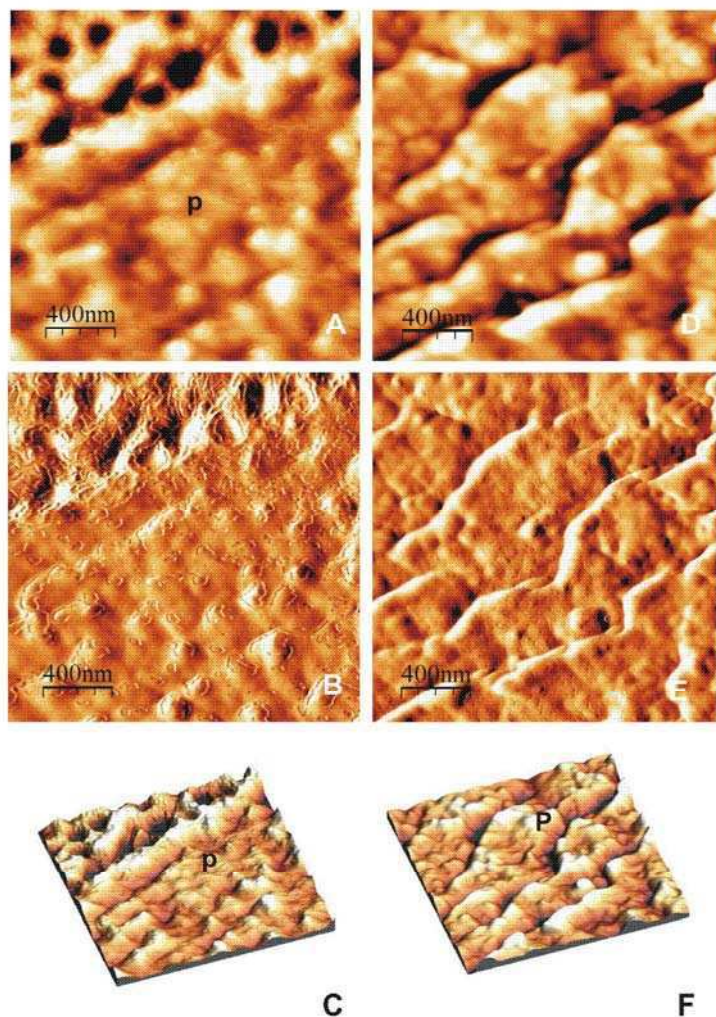


Figura 39. A-F, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart: A-C, control; D-F, secado y molido: proteína, cuerpos proteicos en cortes transversales, observaciones con MFA: A, D, imágenes topográficas; B, E, imágenes en modo señal de error. C, F, imágenes en 3D. p = proteína. Áreas de imágenes: A-F = 2x2 µm.

4.3. *Prosopis flexuosa* DC.

4.3.1. Caracteres exomorfológicos

Descripción general

Comprende árboles o arbustos grandes, erectos, de 3 – 10 m de altura; con la copa rala, hemisférica y el follaje liviano, extendido, deciduo. Las ramas jóvenes son castaño claras, péndulas, flexuosas, nudosas y con la edad tortuosas. Cuando poseen espinas, éstas son axilares, geminadas, comúnmente pequeñas de 3 – 4 cm de longitud. La corteza es castaña, escamosa, con placas deciduas. Las hojas son 1 – 3 yugas, glabras o escasamente pubérulas; con pinnas de 5 – 13 cm de longitud. Los folíolos son lineares, opuestos, distantes de 12 – 29 pares por pinna, obtusos a subagudos, con los márgenes cuneados o paralelos, de 4 - 15 mm de longitud x 1 – 2 mm de latitud, subcoriáceos, con venación del tipo pinnada-camptódroma-broquidódromo.

Las inflorescencias son racimos, amarillentos con reflejos rojizos, densos, espiciformes, de 4 – 14 cm de longitud; aproximadamente con 200 flores, cada uno.

El fruto es una legumbre indehiscente (lomento), subcoriáceo, grueso, más o menos curvado o casi recto o subfalcado, de 5 – 28 cm de longitud x 0.7 – 1.5 cm de latitud, con un grosor de 0.5 - 0.8 cm; subcomprimido, submoniliforme y con los márgenes ondulados. El epicarpo es pajizo-amarillento, con manchas violeta a negro violáceo.

Las semillas son numerosas, elípticas u oblongas.

Se distribución en el país comprende las provincias de Tucumán, Catamarca, La Rioja, O de Córdoba, San Juan, San Luis, Mendoza, La Pampa, Río Negro y oeste de Buenos Aires.

Esta especie prefiere suelos profundos, franco-arenosos y semisalinos (Figura 40 A-F; Figura 41 A-B)). Es una freatófita facultativa en áreas con precipitaciones mayores a los 300 mm y freatófita obligada a menores registros. Esta especie es de fundamental importancia en la formación de bosques, en desiertos abiertos a lo largo de ríos temporarios.

En las áreas del país donde crece, es reconocida con los siguientes nombres vernáculos: “algarrobo”, “algarrobo dulce”, “algarrobo negro”,

“algarrobo amarillo”, “panta negro”, “árbol negro”, “lámar”, “lámaro” . En Chile, el nombre más difundido es “algarroba”.

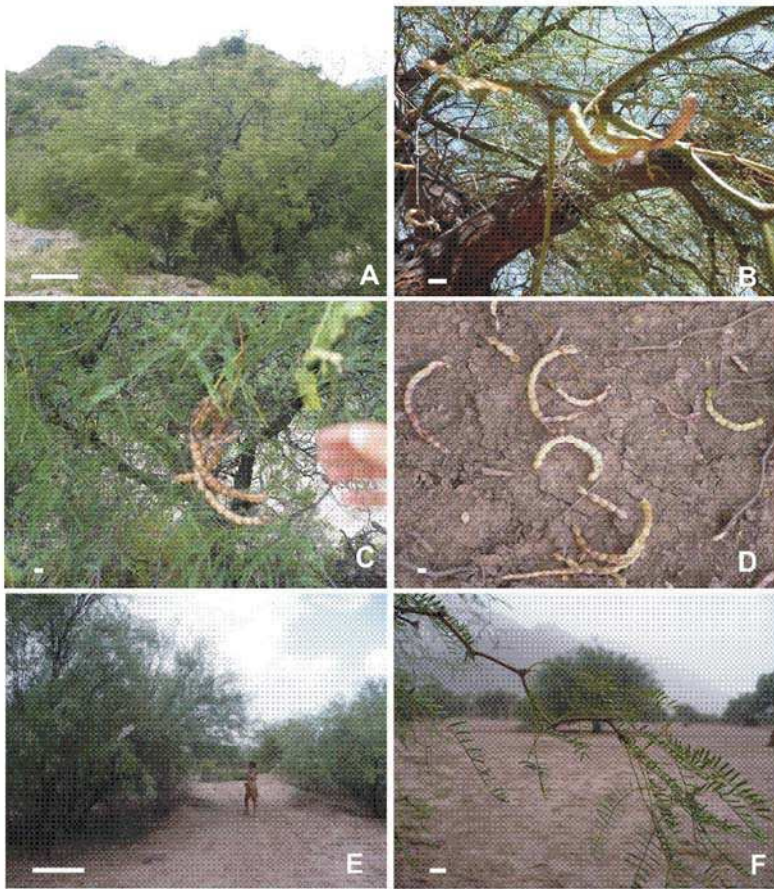


Figura 40. A-F, *P. flexuosa* DC.: A-D, camino a Aimogasta, ruta 60, km 1172,5 (provincia de La Rioja): A, árbol, aspecto general; B-C, rama con hojas y frutos (lomentos) maduros; D, frutos en el suelo; E-F, árboles en la localidad de El Puesto (provincia de Catamarca): E, aspecto general; F, detalle de rama con hojas. Escalas: A = 1 m; B-D = 0,5 cm; E = 1,60 m; F = 10 mm.

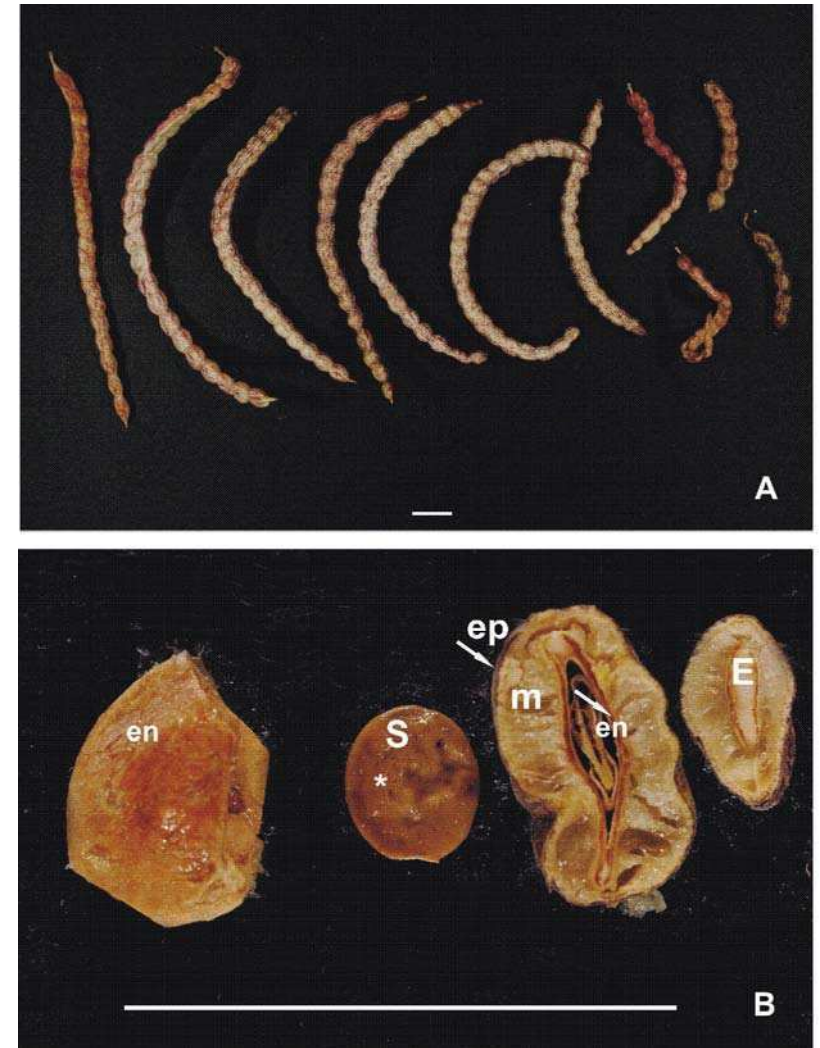


Figura 41. A-B, *P. flexuosa* DC.: A, frutos, aspecto general; B, endocarpo leñoso, semilla y fruto en corte transversal. EM = embrión; EN = endocarpo; EP = epicarpo; M = mesocarpo; S = semilla. Escalas: A-B = 2 cm.

4.3.2. Fruto, semilla y cuerpos proteicos. Caracteres estructurales (micro, ultra)

❖ Fruto

En el área de estudio la floración ocurre entre Octubre y Diciembre. Los frutos maduran entre Diciembre y Febrero.

El fruto es una legumbre indehisciente (lomento), pajizo- amarillento, grueso, con manchas violeta a negro violáceo. Observado con lupa y al MEBA, presenta en corte transversal, un pericarpo de espesor variable aproximadamente 2,0 - 2,5 mm (Figura 42 A-B; Figura 43 A). De afuera hacia adentro, está constituido por un epicarpo pluriestratificado, coriáceo, delgado, con los márgenes ondulados, de espesor variable, 0,14 – 0,2 mm, constituido por la epidermis uniestratificada y capas subepidérmicas (4 - 5), ambas, con células cuyas paredes están visiblemente lignificadas. Numerosos haces vasculares colaterales, secundarios y con paquetes de fibras lignificadas, ubicados del lado del floema, se ven en sección transversal, indicando que corren paralelos al eje longitudinal del fruto (Figura 43 B). El mesocarpo consiste en una pulpa comestible, azucarada, muy dulce, pegajoso, visiblemente desarrollado, con espesor aproximado de 1,7 – 2,0 mm; está constituido por células parenquimáticas, transversalmente alargadas, dispuestas entre otras notoriamente distendidas o ideoblastos (Figura 43 A, C). La zona más interna es el endocarpo, de aproximadamente 0,2 – 0,3 mm, constituido por fibroesclereidas. Estas últimas, están distribuidas en capas pluriestratificadas y tienen un patrón de disposición transversal o longitudinal, según las capas. El endocarpo es septado, articulado. Entre semilla y semilla, presenta constricciones o estrangulamientos (Figura 43 D-E).

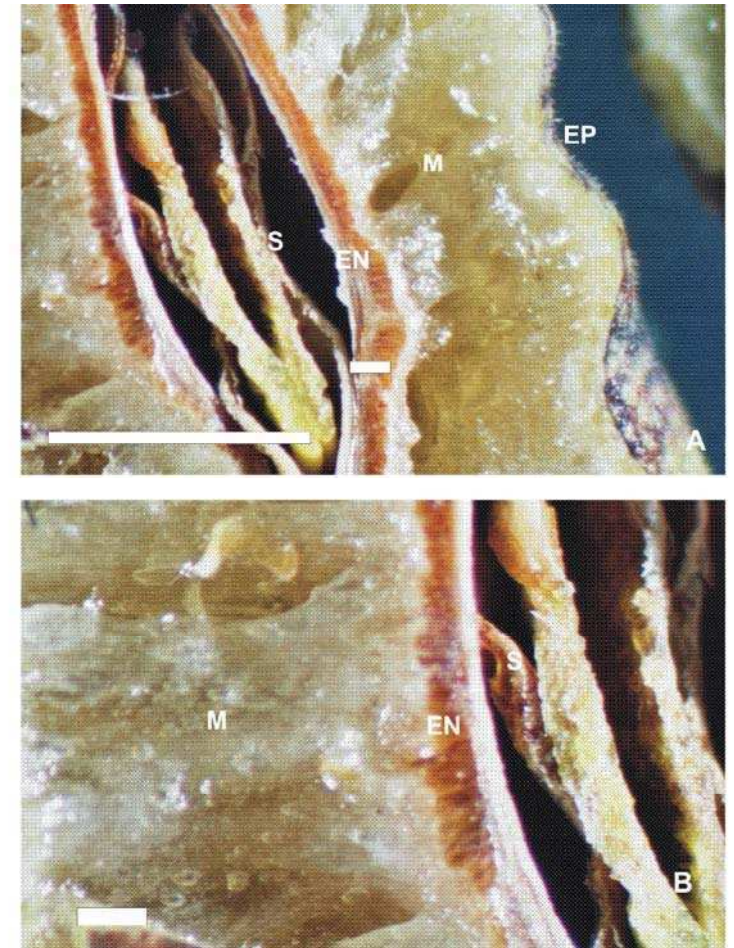


Figura 42. A-B, *P. flexuosa* DC.: observaciones con lupa o microscopio estereoscópico: A, fruto en corte transversal y semilla en corte longitudinal; B, detalle de mesocarpo rico en polisacáridos y endocarpo leñoso. EN = endocarpo; EP = epicarpo; M = mesocarpo; S = semilla. Escalas A = 0,34 cm; B = 0,05 mm.

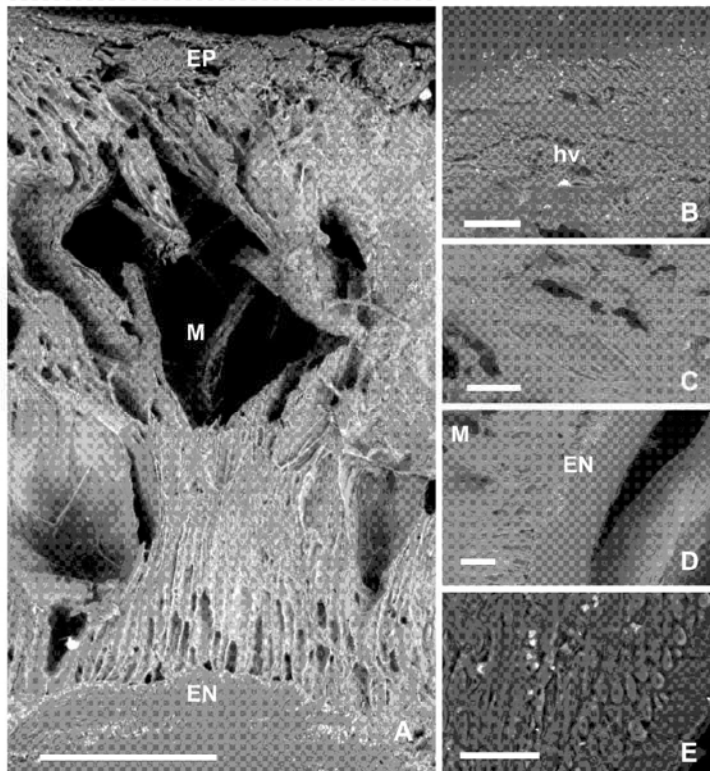


Figura 43. A-E, *P. flexuosa* DC., fruto, observaciones con MEBA: A, fruto en corte transversal, pericarpo; B, epicarpo con haces vasculares, detalle; C, células del mesocarpo, detalle; D, mesocarpo y endocarpo; E, fibras del endocarpo, detalle. EN = endocarpo; EP = epicarpo; hv = haces vasculares; M = mesocarpo. Escalas: A = 500 μ m; B-C = 100 μ m; D = 200 μ m.

❖ Semilla

Las semillas, de color castaño amarillento, marrón a marrón rojizo, más o menos brillante, presentan textura lisa. Son en general, elípticas a oblongas, con los bordes redondeados. El tamaño aproximado es 8,0 – 8,5 mm de longitud y 5,0 – 5,7 mm de ancho. En el centro, exhiben un umbón casi imperceptible, rodeado por la línea fisural en herradura de color algo más claro que el tegumento seminal externo. El extremo calazal de la semilla es más ancho que el hilar. La sección longitudinal de la semilla es elíptica, desde afuera hacia adentro se distinguen: el tegumento seminal, el endosperma, córneo, opalino, blanquecino y altamente higroscópico ubicado a ambos lados del embrión. El embrión presenta los dos cotiledones en sección transversal (Figura 44 A-C), es amarillo, con un eje corto de aproximadamente 2,6 - 2,8 mm y cotiledones de 6,0 mm de longitud y 4,8 mm de ancho, sagitados en la base (Figura 44 D-F).

Observadas con FESEM y en corte transversal, las semillas exhiben el tegumento seminal constituido por la testa o tegumento externo compuesto por una capa de macroesclereidas y segunda capa de osteoesclereidas. El tegmen o tegumento interno, consta de pocas capas de células pequeñas (Figura 45 A-C). El endosperma está formado por varias capas de células con las paredes conspicuamente engrosadas (Figura 45 A-C). Al microscopio óptico (MO) las células del endosperma exhiben las paredes primarias reservantes notablemente engrosadas y refringentes. El citoplasma denso ocupa por completo el lumen celular (Figura 46 A-C). Los cotiledones presentan ambas epidermis uniestratificadas; en posición intermedia, el parénquima reservante está constituido por células distendidas conteniendo abundantes lípidos, que se tiñen de color naranja con Sudán IV y rodean a los cuerpos proteicos (Figura 45 C-F; Figura 47 A-C). Los cuerpos proteicos son abundantes, corpusculares y llenan las células del parénquima reservante del embrión (Figura 47 D-E).

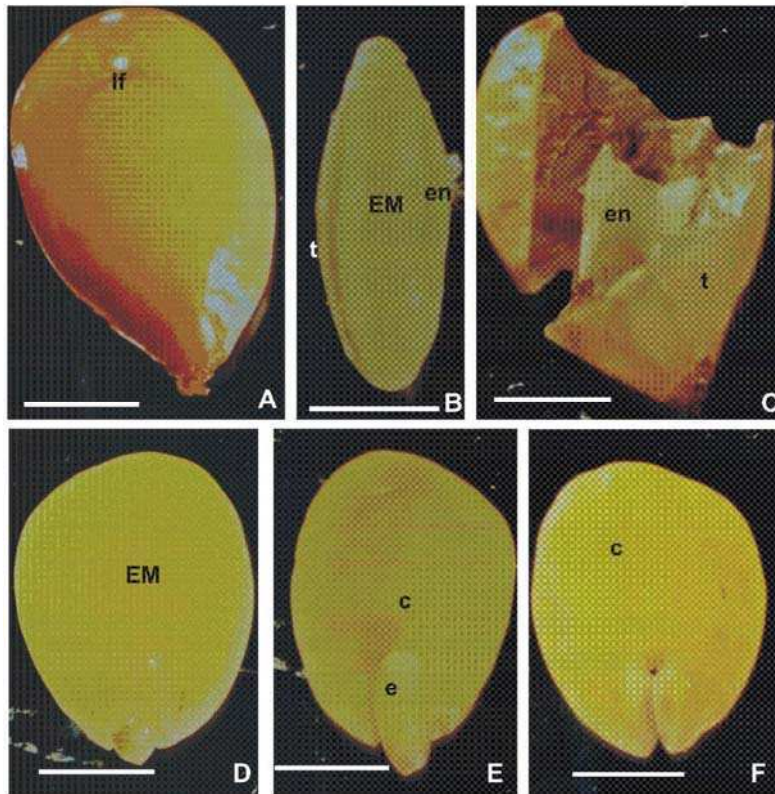


Figura 44. A-F, *P. flexuosa* DC., semilla, observaciones con microscopio estereoscópico o lupa: A, semilla en vista superficial; B, semilla en corte longitudinal; C, tegumento seminal y endosperma; D-E, embrión; F, cotiledón. c = cotiledón; e = eje; EM = embrión; en = endosperma; lf = línea fisural; t = tegumento seminal. Escalas: A, C = 2,6 mm; B = 3,1 mm; D-F = 2,4 mm.

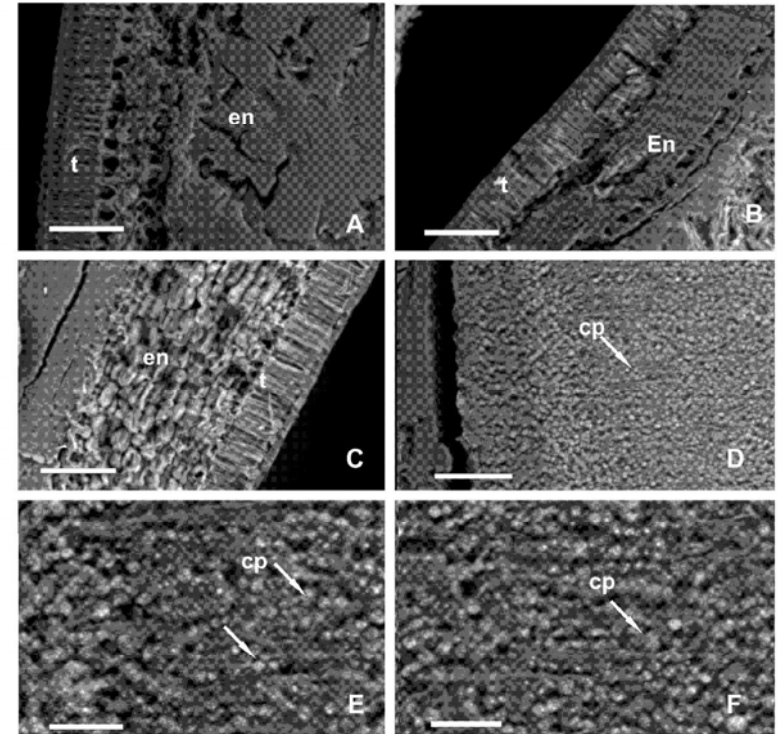


Figura 45. A-F, *P. flexuosa* DC., semilla en corte transversal fruto, observaciones con MEBA: A, fruto: A-C, tegumento seminal y endosperma; D-F, células del cotiledón con cuerpos proteicos: D, aspecto general; E-F, detalles. cp = cuerpos proteicos; en= endosperma; t = tegumento seminal. Escalas: A-D = 50 μ m; E-F = 20 μ m.

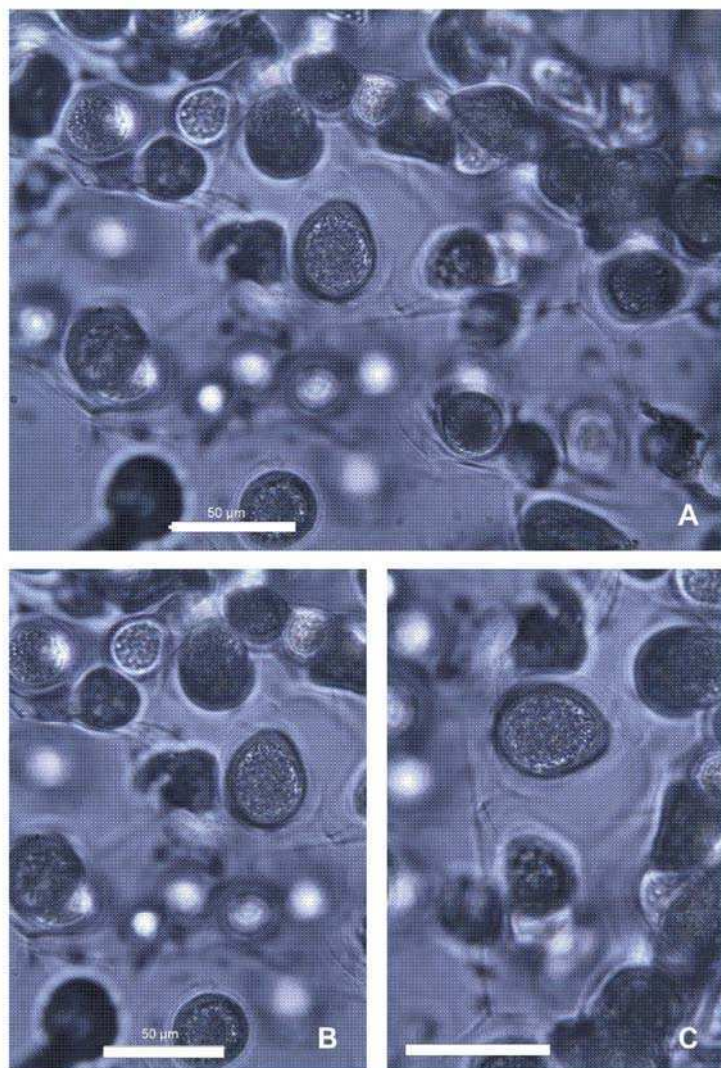


Figura 46. A-C, *P. flexuosa* DC., semillas: endosperma, observaciones con microscopio óptico. Escalas: 50 µm.

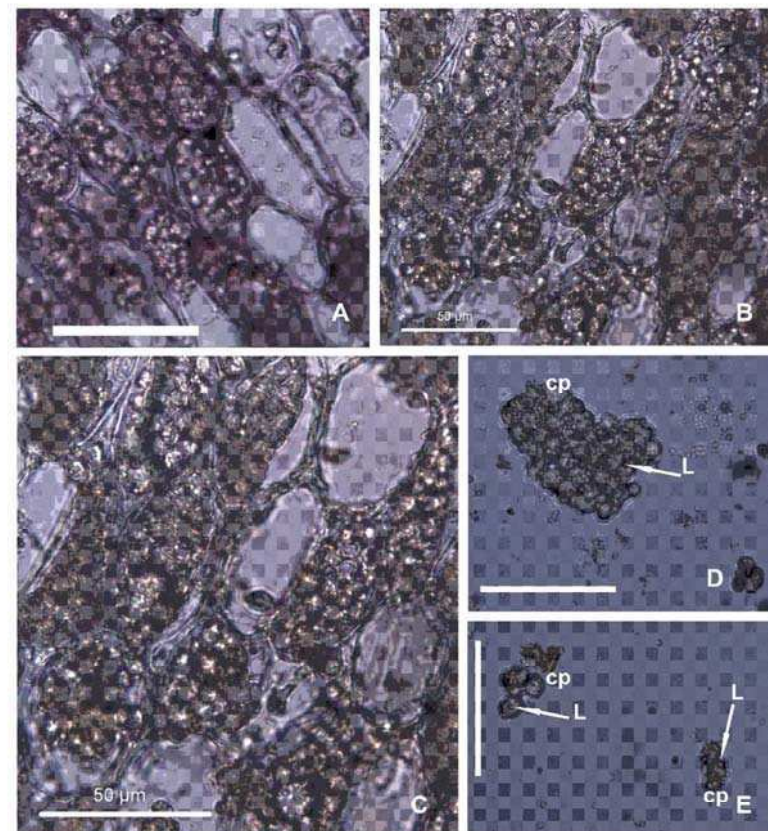


Figura 47. A-E, *P. flexuosa* DC., embrión, ensayos histoquímicos, observaciones con microscopio óptico: A, células del cotiledón con cuerpos proteicos; B-C, células del cotiledón con lípidos (tinción con Sudán IV); D-E, lípidos y cuerpos proteicos (tinción con Sudán IV). cp = cuerpo proteico; L = lípidos. Escalas: 50 µm.

❖ Cuerpos proteicos

Observaciones con MO y MEBA

a) control

La observación con microscopio óptico, de preparados histológicos de los cuerpos proteicos presentes en las semillas de *P flexuosa*, obtenidos a partir del embrión y montados en agua, permite detectar la presencia de cuerpos corpusculares, agregados o aislados, refringentes (Figura 48 A-C).

A partir de material incluido en resina Spurr, los cortes transversales de aproximadamente 1 µm de espesor del cotiledón de un embrión control, fueron realizados con ultramicrotomo y teñidos con azul de toluidina. Se observan, vistas parciales de células del parénquima reservante con paredes primarias engrosadas y refringentes. Estas células presentan contornos rectilíneos, no dejan espacios intercelulares entre si y conforman un tejido compacto. En el interior de las células se observa, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, refringentes, uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben, en general, contornos poligonales, y tamaño variable de 1.36 – 3,42 µm (Figura 49 A-B). El análisis MEBA-EDX, de los cuerpos proteicos permite conocer la composición mineral de los mismos, detectando la presencia de los siguientes elementos químicos: Mg, P, S, Cl, K y Ca (Figura 50).

Para obtener las harinas, los frutos son sometidos a un proceso de secado previo a 60° C de temperatura para luego ser molidos, a escala laboratorio, con un molinillo a cuchillas. Con el fin de analizar posibles alteraciones en los cuerpos proteicos por efecto de la temperatura y/o por efecto mecánico durante la molienda, se analizan los caracteres estructurales de los mismos.

b) secado a 60° C

La observación de cortes transversales del cotiledón de un embrión secado a 60° C, realizados con ultramicrotomo, a partir de material incluido en resina Spurr, de aproximadamente 1µm de espesor y teñidos con azul de toluidina, muestra vistas parciales de las células del parénquima reservante. Estas células son más o menos alargadas a isodiamétricas, presentan

contornos rectilíneos a redondeados, ausencia de espacios intercelulares, paredes primarias engrosadas, con signos de menor refringencia, respecto del control. Se observa, además, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, opacos, compactada y uniformemente distribuidos en cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben contorno poligonal y tamaño de 1,36 – 4,79 µm (Figura 49 C-D).

c) secado a 60° C y molido

Los cortes transversales del material incluido en resina Spurr, del cotiledón de un embrión secado a 60° C y molido (con molino a cuchilla) durante 15 segundos, a velocidad constante, muestran, vistas parciales de las células del parénquima reservante. Estas, en su mayoría son isodiamétricas y dejan entre sí algunos espacios intercelulares, reducidos e irregulares. Las células exhiben paredes primarias, visiblemente engrosadas, refringentes. Se observa, además, la presencia de abundantes cuerpos proteicos, poligonales, compactadamente distribuidos en el interior de cada célula del parénquima reservante. Los cuerpos proteicos exhiben tamaño variable de 0,86 – 7,75 µm, y puntos visiblemente refringentes en el interior (Figura 49 E-F).

El análisis MEBA-EDX, de los cuerpos proteicos muestra la composición mineral de los mismos, detectando la presencia de los elementos químicos: Mg, P, S, Cl, K y Au. Se advierte la ausencia del elemento Ca registrado en el control (Figura 30 A-C).

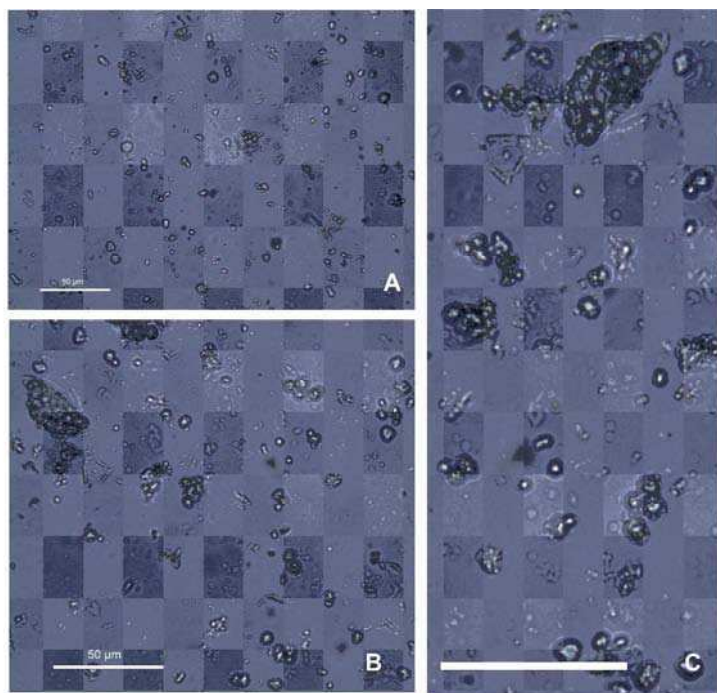


Figura 48. A-C, *P. flexuosa* DC., control: cuerpos proteicos, observaciones con microscopio óptico. Escalas: 50 µm

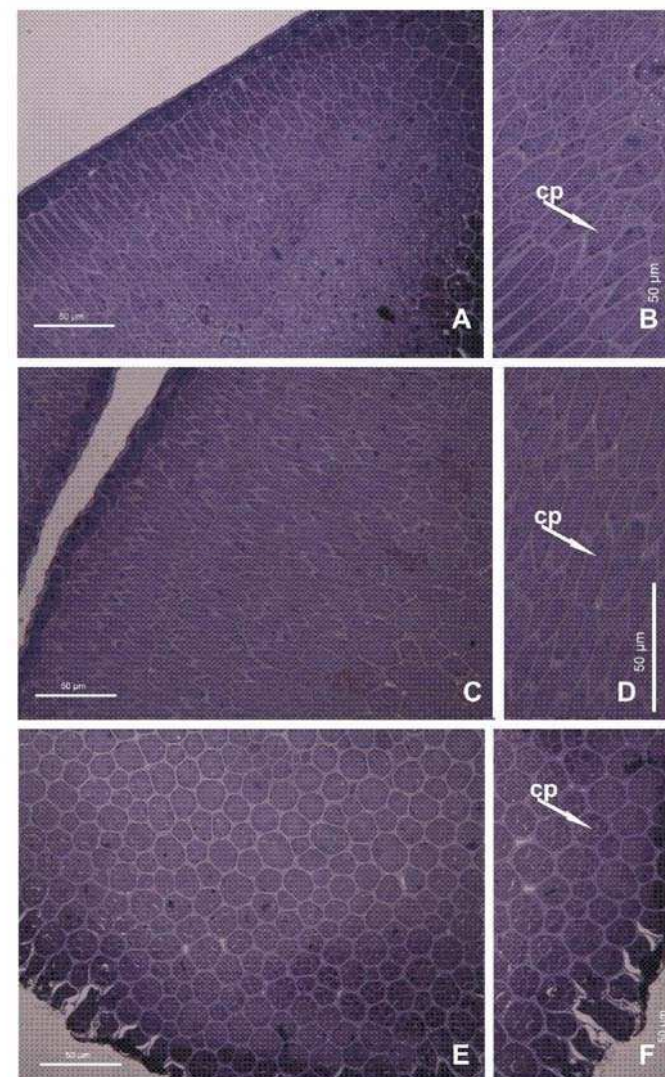


Figura 49. A-F, *P. flexuosa* DC., observaciones con microscopio óptico, embrión, corte transversal: cuerpos proteicos en cotiledón. A-B, control; B-C, secado a 60° C; E-F, secado a 60° C y molido. cp = cuerpos proteicos. Escalas: 50 µm.

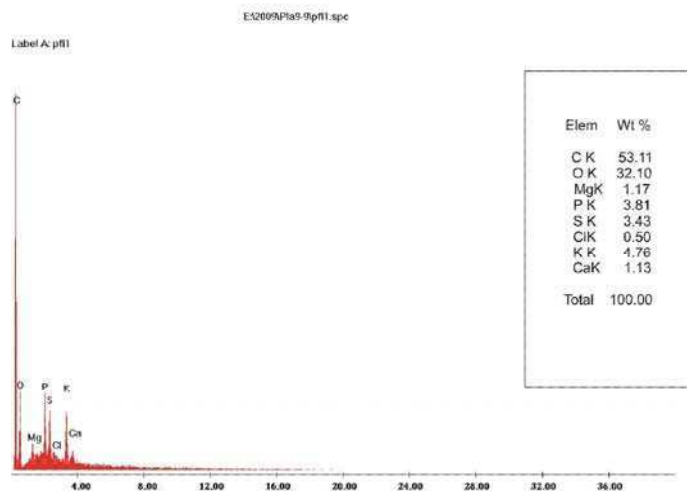


Figura 50. *P. flexuosa* DC., MEBA - EDX análisis: espectro de energía característico de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos del cotiledón.

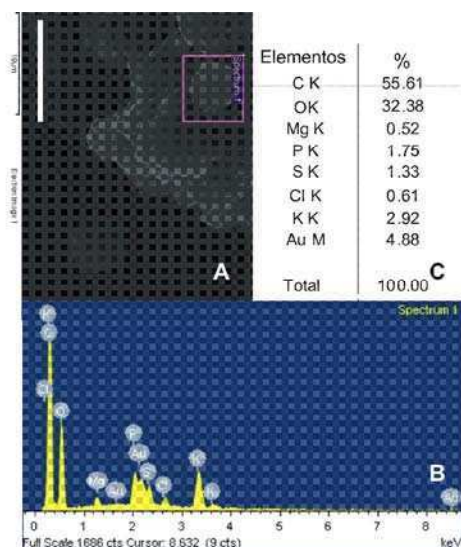


Figura 51. A-F, *P. flexuosa* DC., molienda, fracción < 350 µm, MEBA - EDX análisis: A, D, cuerpos proteicos; B, E, espectros de energía característicos de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos del cotiledón; C, F, valores (%) de los elementos minerales presentes en los cuerpos proteicos analizados. Escalas: A = 10 µm; D = 8 µm

4.4. Secado

❖ Ensayos de acondicionamiento previo de los frutos

Los valores de humedad promedio de la muestras de los frutos ensayados, emulando la humedad de cosecha, para cada una de las especies son: *P. alba*: 14.75 %; *P. chilensis*: 14,34 %; *P. flexuosa*: 18,40 %.

Para humidificar los frutos se requieren, en promedio y en cada caso, diferentes tiempos: *P. alba*, 35 horas y *P. chilensis*, 24 horas. Para evitar el riesgo de contaminación fúngica, los frutos de *P. flexuosa*, se extraen del desecador al quinto día, sin haber alcanzado aún, el valor de humedad de cosecha.

❖ Determinación de la humedad de los frutos.

Para determinar el contenido de humedad de los frutos, se prepara una muestra de harina moliendo los frutos (lomentos) de cada especie, recién cosechados y sin secado previo. La determinación de humedad por secado en estufa de vacío, se representa en la figura 52 donde se observa la evolución del peso de una muestra de harina de *P. flexuosa* hasta constancia de peso.

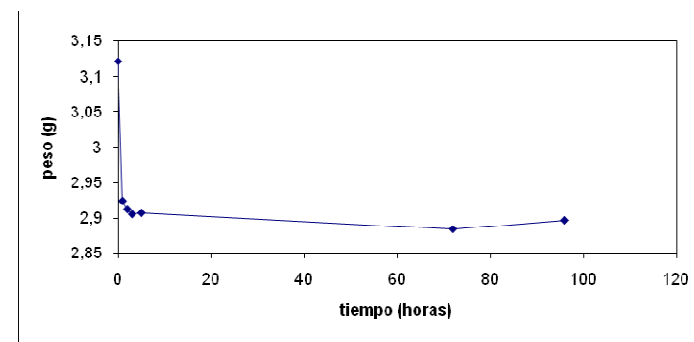


Figura 52. Evolución del peso en la determinación de humedad de la harina

En dicha figura, se aprecia una importante pérdida de agua en las primeras horas. Los valores fluctuantes se deben a la higroscopicidad del material.

Debido a la evaporación de agua durante la preparación de la harina, se obtiene un valor de humedad por defecto de 9,6 % base seca

Para evitar la evaporación durante la elaboración de harina se prueban dos procedimientos: a) preparar la harina a partir de frutos previamente secados b) usar frutos secados y trozados. Ambas alternativas resultan válidas y confiables. Se adopta la primera.

❖ Curvas experimentales de cinética de secado

Se realizan los ensayos de cinética de secado para cada una de las especies estudiadas. Se aplican cuatro temperaturas del aire de secado: 40, 50, 60 y 70° C. Las Figuras 53, 54 y 55 exponen la evolución del contenido de humedad de los frutos durante el secado. Las curvas experimentales obtenidas para las distintas temperaturas evidencian un comportamiento asintótico de la humedad del fruto en base seca (bs) en función del tiempo de secado. La velocidad de deshidratación es muy pronunciada al inicio del proceso y disminuye gradualmente a medida que se acerca a las condiciones de equilibrio.

Para cada una de las especies analizadas, acondicionadas con la misma metodología, se aprecia que el efecto de la temperatura es diferente y significativo. Se indican, además, los diferentes contenidos iniciales de humedad para las especies

En la Figura 53., en *P. alba*, se observa que a las cuatro temperaturas de secado ensayadas, la curva de deshidratación muestra una fase inicial lineal con abrupto descenso en función del tiempo, seguida de una fase de menor pendiente hasta alcanzar la fase asintótica. Es decir, que la velocidad de secado es más rápida al comienzo del proceso, en especial cuanto más alta sea la temperatura de secado ($70^{\circ}\text{C} \geq 60^{\circ}\text{C} > 50^{\circ}\text{C} > 40^{\circ}\text{C}$) y disminuye paulatinamente hasta alcanzar la humedad de equilibrio. Es marcada la diferencia entre 40° C y 50° C. También es marcada la diferencia entre 50° C y 60° C - 70° C. Las curvas correspondientes a 60° C y 70° C no se diferencian apreciablemente entre sí. En el caso de las curvas de 40° y 50° C, al inicio del proceso, el descenso es muy similar, comienzan a separarse a partir de transcurridos los 25 minutos, a partir del cual aumenta significativamente la diferencia. Después de 150 minutos las curvas mencionadas vuelven a coincidir en la fase asintótica correspondiente a la humedad de equilibrio. Las

temperaturas probadas resultan eficaces para alcanzar los valores de humedad final deseados por debajo del 6 %.

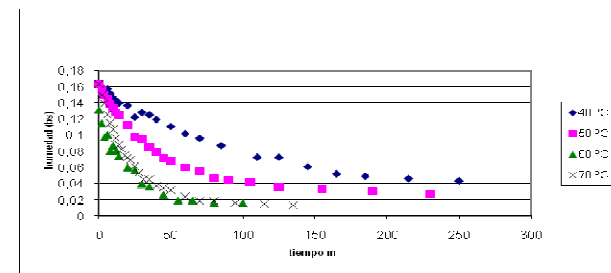


Figura 53. *P. alba*: evolución de la humedad de los frutos en función del tiempo hasta humedad constante a distintas temperaturas.

La Figura 54 muestra las curvas correspondientes al descenso de la humedad de los frutos de *P. chilensis* a las temperaturas ensayadas y en función del tiempo. Las curvas de cinética de secado 50° C, 60° C y 70° C presentan una fase inicial lineal con un abrupto descenso en relación con el tiempo, luego sigue una fase de menor pendiente, hasta alcanzar la fase asintótica. Al inicio, estas curvas casi no se diferencian, luego se separa la curva de 50° C, mientras que las dos restantes (60° C y 70° C) continúan muy próximas hasta transcurrido un tiempo de 2 hs.

En el caso de la curva de 40° C, el descenso es muy lento, presenta “escalones” y luego desciende paulatinamente. A esta temperatura no es posible llegar a la humedad final deseada. Respecto de *P. alba* el proceso de secado es más lento, es decir, en un tiempo mayor que el requerido para *P. alba*, a 50° C, 60° C y 70° C de temperatura se alcanzan valores menores al 6 %.

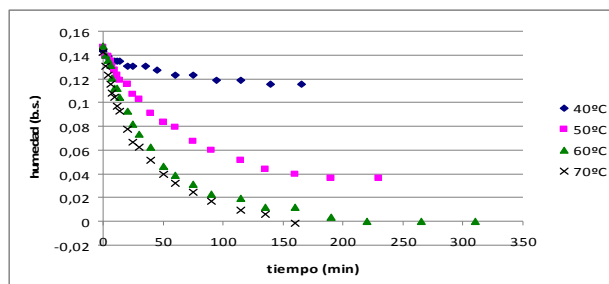


Figura 54. *P. chilensis*: evolución de la humedad de los frutos en función del tiempo hasta humedad constante a distintas temperaturas.

La Figura 55, muestra el comportamiento del proceso de secado de los frutos de *P. flexuosa*. Presenta un comportamiento similar al observado en *P. alba*. Se aprecian marcadas diferencias entre las curvas de cinética de secado 40° C, 50° C y 60° C - 70° C. Las curvas correspondientes a 40 y 50° C no se diferencian mucho hasta aproximadamente los 10 minutos, luego se separan. En cambio las curvas de deshidratación a 60 y 70° C, denotan velocidades de secado similares en todo el rango de secado. Cabe señalar que las muestras procesadas a 40° C y 50° C, durante un tiempo mayor a 3 horas, no alcanzaron el valor de humedad final deseada (< 6 %).

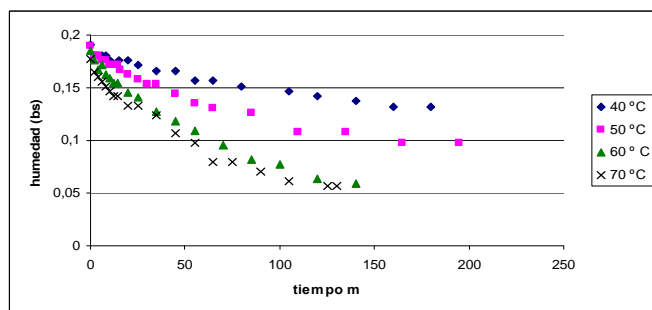


Figura 55. *P. flexuosa*: evolución de la humedad de los frutos en función del tiempo hasta humedad constante a distintas temperaturas.

La Figura 56 muestra las curvas de cinética de secado para las tres especies ensayadas, obtenidas a 60° C, de temperatura. Esta temperatura es la seleccionada, dado que permite alcanzar, en las tres especies, el nivel de

humedad final (< 6 %) requerida para la molienda, optimizando el proceso al minimizar el tiempo, el costo energético y preservar las proteínas.

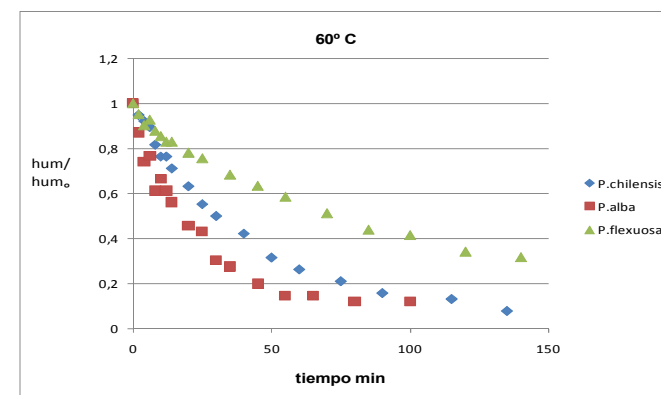


Figura 56. Curvas de cinética de secado a 60° C de temperatura en términos de humedad /humedad inicial versus tiempo (min) para las tres especies estudiadas.

Las especies analizadas difieren entre si en cuanto a la cinética de secado a 60° C de temperatura. En todos los casos la deshidratación del fruto aumenta con el tiempo empleado para el secado. Se observa un descenso marcado de la humedad al inicio del proceso.

El tiempo requerido para alcanzar los valores deseados de humedad final (< 6 %) es: 25 minutos para *P. alba*; 50 minutos para *P. chilensis* y 2 horas 20 minutos para *P. flexuosa*.

Según la ley de Fick, en los sólidos con niveles de humedad menores al 30%, el flujo difusivo de agua es inversamente proporcional al espesor. Los resultados obtenidos se correlacionan, además, con las diferencias estructurales del pericarpio de los frutos de las especies analizadas (Figura 57 A-C). *P. flexuosa* presenta el pericarpio de mayor espesor con el mesocarpio poroso y la menor velocidad de secado. Respecto de *P. flexuosa*, *P. alba* exhibe un pericarpio con menor espesor, una estructura porosa del mesocarpio y menor tiempo de secado. *P. chilensis* presenta el pericarpio más delgado, con el mesocarpio muy compacto y el tiempo de secado mayor que *P. alba*.

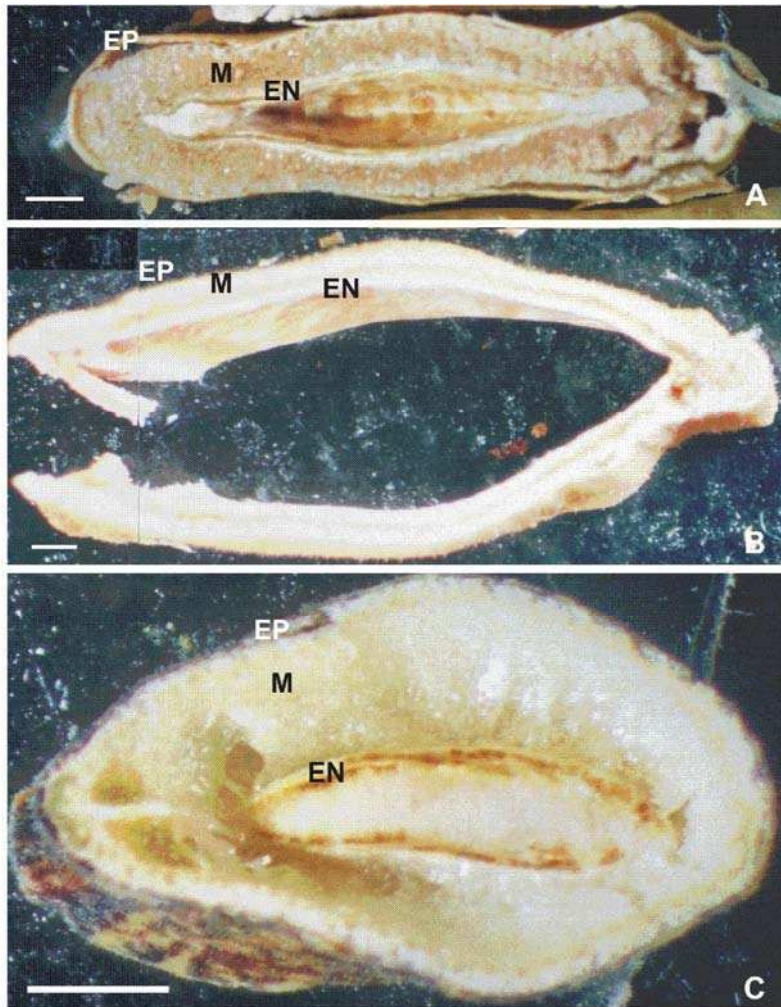


Figura 57. A-C, frutos en corte transversal, observaciones con microscopio estereoscópico o lupa: A, *P. alba* Griseb.; B, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, C, *P. flexuosa* DC. EN = endocarpo; EP = epicarpo; M = mesocarpo. Escalas: A = 2 mm; B = 1 mm; C = 3 mm.

❖ Modelado de las curvas de cinética de secado. Ecuación de Peleg

Las Figuras 58, 59 y 60, muestran el ajuste de los datos cinéticos aplicando la ecuación linealizada de Peleg. En todos los casos, se observa que el modelo utilizado resulta satisfactorio, proporcionando un buen ajuste de los datos experimentales ($R^2 > 0,90$). A 40° C se registran los menores valores del coeficiente de determinación ($R^2 = 0,9351$). A esta temperatura el secado es más lento, la estructura del pericarpo genera barreras estructurales que a esta temperatura retardan la migración del agua hacia la superficie del fruto.

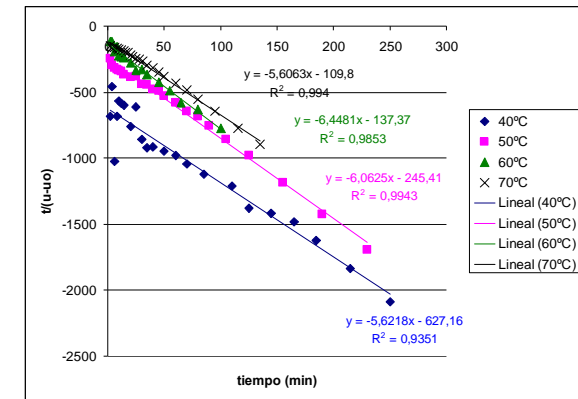


Figura 58. *P. alba* Griseb. Modelo de Peleg

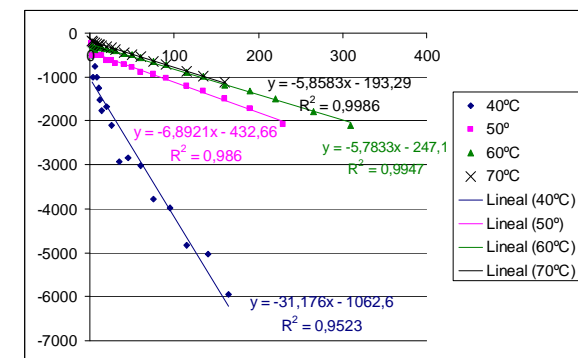


Figura 59. *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart. Modelo de Peleg.

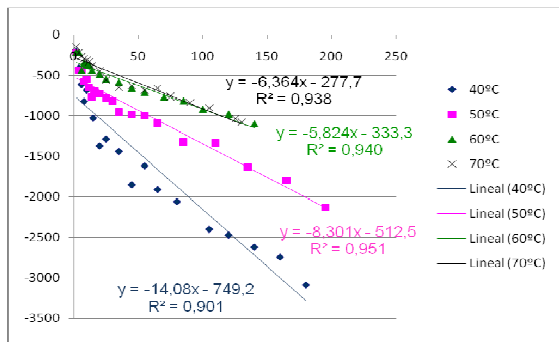


Figura 60 *P. flexuosa* DC. Modelo de Peleg.

La Tabla 1, muestra los parámetros k_1 y k_2 obtenidos por regresión lineal y los valores de los coeficientes de determinación (R^2) que permiten evaluar la bondad del ajuste proporcionado por el modelo de Peleg. En todos los casos se obtienen valores satisfactorios del coeficiente de determinación ($R^2 > 0,90$).

El efecto de la temperatura sobre el valor de k_1 es apreciable. Se observan disminuciones de 82,4%, 81,8% y 62,9% en el valor de k_1 al incrementar la temperatura de secado desde 40° C hasta 70° C para las especies de *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*, respectivamente.

Tabla 1. Valores de los parámetros de la ecuación de Peleg

Especie	T(° C)	k_1	k_2	R^2
<i>P. alba</i>	40	627,16	5,6218	0,9351
	50	245,41	6,0625	0,9943
	60	137,37	6,4481	0,9853
	70	109,8	5,063	0,9940
<i>P.chilensis</i>				
	40	1062,6	31,17	0,9523
	50	432,6	6,892	0,9860
	60	247,1	5,783	0,9947
	70	193,2	5,858	0,9986
<i>P. flexuosa</i>				
	40	749,2	14,08	0,901
	50	512,5	8,301	0,951
	60	333,3	5,824	0,940
	70	277,7	6,364	0,938

Los valores de k_2 son afectados por la temperatura, en menor medida que los valores de k_1 tal como se ve en *P. alba*. Se observan disminuciones de

21,48 %, 81,44 % y 58,6 %, en el valor de k_2 al aumentar la temperatura entre 40° C y 70° C para *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*, respectivamente.

La Tabla 2 muestra los valores de humedad de equilibrio (m_e) y de la velocidad inicial de secado, calculados mediante las ecuaciones (3) y (4), respectivamente. En la Tabla también se incluyen los valores de la humedad inicial del fruto (m_0) ya que se trata de valores requeridos para el cálculo de la humedad de equilibrio (ecuación 3).

Tabla 2. Valores de humedad de equilibrio (m_e) y velocidad inicial de secado ($1/k_1$) obtenidas a partir de los parámetros del modelo de Peleg

Especie	T (°C)	m_0 % (b.s)	m_e % (b.s)	$1/k_1 \cdot 10^3$ 1/ min
<i>P. alba</i>	40	16,37	-1	1,5945
	50	16,37	---	4,0748
	60	13,17	---	7,2796
	70	16,37	---	9,1075
<i>P.chilensis</i>	40	14,28	11,07	0,9410
	50	14,66	0,15	2,3112
	60	14,72	-1	4,0469
	70	14,22	---	5,1735
<i>P. flexuosa</i>	40	19,47	12,70	1,4921
	50	19,02	7,50	2,1330
	60	18,56	2,50	3,3667
	70	17,79	2,92	4,0414

⁽¹⁾ se registraron valores negativos muy cercanos a cero

En *P. alba* la humedad de equilibrio, en todos los casos es prácticamente cero, indicando que esta especie puede secarse completamente, aún con aire a baja temperatura (40° C). En *P. chilensis*, a partir de 50° C se alcanzan valores de humedad final < 6 % y en *P. flexuosa* a partir de 60° C. Además, en esta última especie, se observa que a bajas temperaturas resulta imposible reducir la humedad al nivel final requerido.

La máxima velocidad inicial de secado (9,1075 m⁻¹) se registra para los frutos de *P. alba* a 70° C (Tabla 2). *P. alba* resulta más fácil de secar que *P. chilensis* y *P. flexuosa*. Además, no requiere temperaturas mayores a 40° C para alcanzar la humedad final < 6 %. *P. chilensis* registra velocidades iniciales de secado de 2,3112 m⁻¹; 4,0469 m⁻¹; 5,1735 m⁻¹ a temperaturas de

50° C, 60° C y 70 ° C, respectivamente. Finalmente, se ubica *P flexuosa* con velocidades equivalentes a 3,3667 m⁻¹ y 4,0414 m⁻¹ a temperaturas de 60° C y 70° C, respectivamente.

❖ Efecto de la temperatura de secado. Ecuación de Arrhenius.

Con el objeto de cuantificar el efecto de la temperatura sobre la velocidad inicial de secado ($1/k_1$) de cada una de las especies estudiadas se aplica la ecuación de Arrhenius.

La Figura 61 muestra el efecto de la temperatura sobre la velocidad inicial de secado ($1/k_1$) mediante Arrhenius para la especie *P. alba*. El valor de la energía de activación resulta 52.2 kJ/mol y el coeficiente de determinación 0,94. Entre 60° C y 70° C no varía apreciablemente el valor de la velocidad inicial de secado. Este hecho se refleja en la leve pérdida de alineación de los puntos experimentales (curvatura) al aumentar la temperatura de secado. Por lo tanto se decidió repetir el ajuste mediante el modelo de Arrhenius considerando solamente los puntos entre 40° C y 60° C. Este resultado se muestra en la Figura 62 donde puede apreciarse que mejora significativamente el coeficiente de determinación (0,99) siendo 65,9 kJ/mol el nuevo valor de la energía de activación.

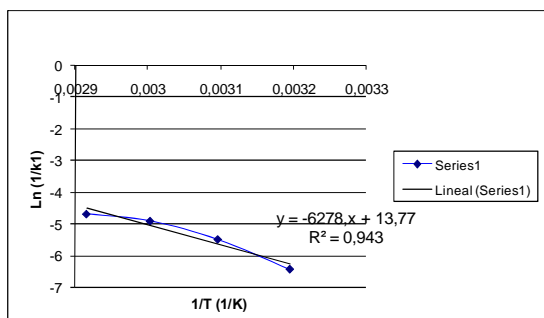


Figura 61. Ajuste del efecto de la temperatura (40 - 70° C) sobre la velocidad inicial de secado para *P. alba* Griseb.

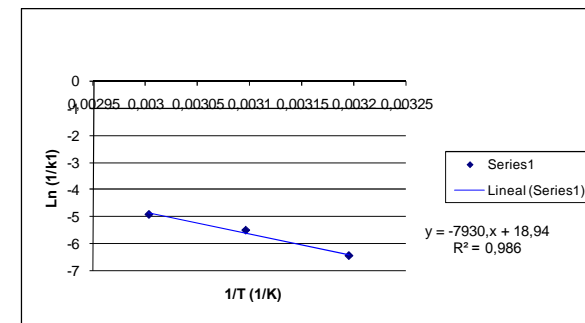


Figura 62. Ajuste del efecto de la temperatura (40 - 60°C) sobre la velocidad inicial de secado para *P. alba* Griseb.

Si se calcula la energía de activación entre 60 y 70° C se obtiene un valor de 21,3KJ/mol equivalente a un tercio del valor obtenido entre 40 y 60° C. Este cambio apreciable de la energía de activación indica que no es necesario secar las muestras a 70° C. Usando una temperatura de 60° C se obtiene el mismo resultado.

La Figura 63 muestra el ajuste para la especie *P. chilensis* en todo el rango de temperaturas (40° C – 70° C) con una energía de activación de 50,96 J/mol siendo el coeficiente de determinación de 0,95. En este caso se observa, al igual que en *P. alba*, que entre 60 y 70° C no varía apreciablemente el valor de la velocidad inicial de secado, señalado en la Figura 61 por una leve curvatura de los puntos experimentales. Considerando solamente los puntos entre 40 y 60° C, como lo muestra la Figura 64, el coeficiente de determinación mejora (0,986) y el nuevo valor de energía de activación resulta 63,32 J/mol, tan sólo un 4% inferior al de *P. alba*.

La energía de activación entre 60 y 70° C resulta de 23,32 J/mol, o sea un tercio de la obtenida entre 40 y 60° C. Por lo tanto se repite lo observado para *P. alba* y no resulta necesario secar a 70° C evitando nuevamente un mayor gasto de energía y probables alteraciones del producto por aumento de la temperatura.

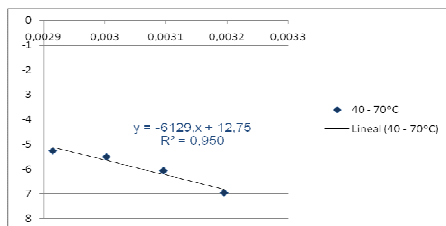


Figura 63. Ajuste del efecto de la temperatura (40-70° C) sobre la velocidad inicial de secado para *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart.

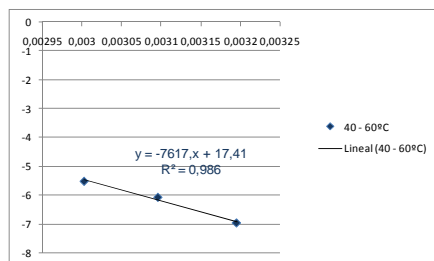


Figura 64. Ajuste del efecto de la temperatura (40-60° C) sobre la velocidad inicial de secado para *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart.

La Figura 65 muestra el comportamiento de *P. flexuosa* donde la energía de activación E_a , considerando el rango completo de temperatura, tiene un valor de 35,1 J/mol siendo muy satisfactorio el valor del coeficiente de determinación ($R^2 = 0,98$). En este caso, un incremento de temperatura (entre 60 y 70° C) redonda en beneficio del secado proporcionando una mayor velocidad de deshidratación.

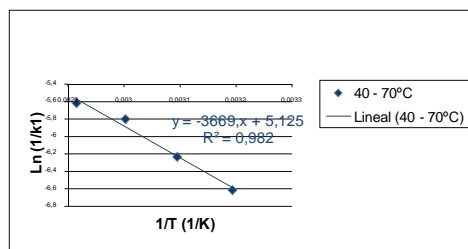


Figura 65. Ajuste del efecto de la temperatura (40-70° C) sobre la velocidad inicial de secado para *P. flexuosa* DC.

4.5. Molienda

❖ Ensayos de molienda

Al trozar el material para moler, tanto a mano como con la tijera, se observa, a simple vista, diferencias estructurales en el epicarpo de *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*.

En cada caso, se selecciona la molienda > 420 μm retenida por el tamiz N° 40; la molienda > 350 μm retenida por el tamiz N° 45 y la molienda < 350 μm (Figura 66 A-F).

Para recuperar las fracciones retenidas en los tamices N° 6 (fracción > 3360 μm), N° 14 (fracción > 1410 μm) y N° 16 (fracción > 1190 μm) que corresponden principalmente a trozos de endocarpo y semillas abortadas (Figura 67 A-D), se realiza una prueba con el molino Rilo. En este ensayo se comprueba que el endocarpo constituido por fibras lignificadas impide el correcto funcionamiento del equipo, calentando excesivamente el mecanismo con el consiguiente deterioro de la muestra generando olor a quemado y oscurecimiento de la molienda. En el caso particular de *P. flexuosa*, la molienda se carameliza, probablemente por la mayor presencia de azúcares en la fracción.

Como otra alternativa, también se prueba un mortero manual que dada la dureza del endocarpo resulta ineficiente para la molienda. Finalmente, ante la imposibilidad de recuperar las fracciones retenidas en los tamices N° 6, N° 14 y N° 16, se resuelve descartarlas. Al descartarlo, se reduce la cantidad de fibra dietaria. En la Tabla 3 se muestran los análisis químicos del endocarpo de las tres especies. Se constata un 46% - 77% de fibra dietaria.

Tabla 3. Contenido de humedad y fibra dietaria del endocarpo de *P. alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC.

ESPECIE	Humedad (g/100g)*	fibra dietaria total (g/100g)**
<i>P. alba</i>	8,51	73,2
<i>P. chilensis</i>	5,48	76,9
<i>P. flexuosa</i>	6,46	46,4

*estufa a 105° C; **AOAC 991.43

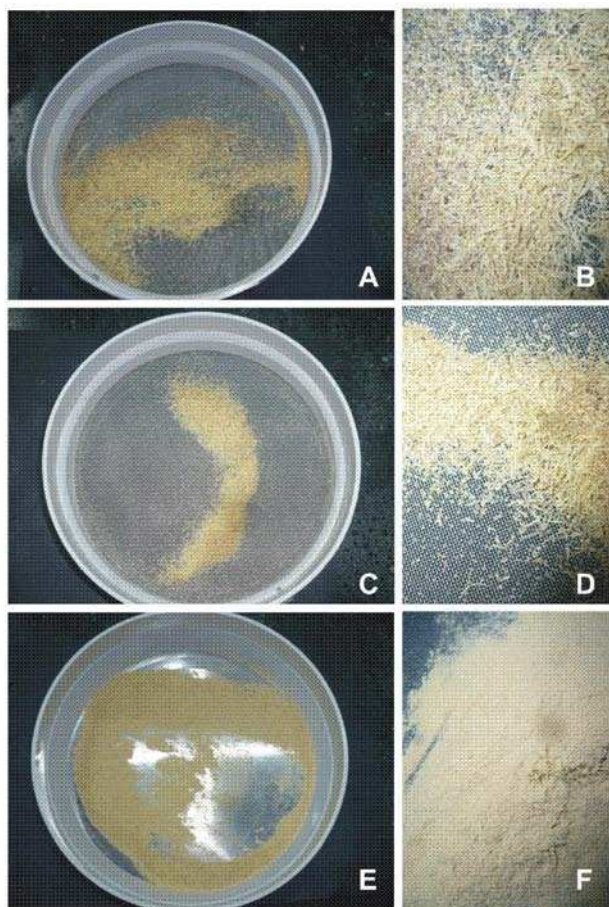


Figura 66. A-F, fracciones de molienda seleccionadas: A-B, fracciones de molienda $> 420 \mu\text{m}$, retenida por el tamiz N° 40; C-D, fracciones de molienda $> 350 \mu\text{m}$, retenida por el tamiz N° 45; E-F, fracciones de molienda $< 350 \mu\text{m}$.

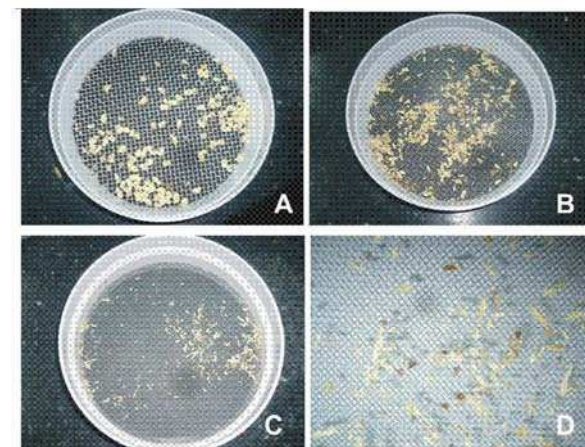


Figura 67. A-D, fracciones de molienda descartadas, corresponden principalmente a trozos de endocarpo y semillas abortadas: A, fracción de molienda ($> 3360 \mu\text{m}$), retenida en el tamiz N° 6, B, fracción de molienda ($> 1410 \mu\text{m}$), retenida en el tamiz N° 14; C-D, fracciones de molienda ($> 1190 \mu\text{m}$), retenidas en el tamiz N° 16.

❖ Caracterización ultraestructural con FESEM de las fracciones de molienda seleccionadas de las especies ensayadas

a) *Prosopis alba* Griseb.

Fracción de molienda $> 420 \mu\text{m}$: Es la fracción retenida en el tamiz N° 40. Las observaciones realizadas, permiten apreciar la granulometría gruesa y el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción (Figura 68 A-B). Además, se reconoce la presencia de trozos que corresponden a diferentes partes de la semilla. Éstos incluyen: restos de endosperma (Figura 68 I-K), restos de tegumento seminal que permanece en contacto con el endosperma (Figura 68 C-D, H), porciones que incluyen tegumento seminal, endosperma y parte del embrión (Figura 68 G); partes del epicarpo con numerosos haces vasculares secundarios y alto porcentaje de fibras lignificadas (Figura 68 E-F), y trozos de cotiledón del embrión, con las células

del parénquima reservante conteniendo los cuerpos proteicos, aún luego del proceso de molienda (Figura 68 L).

Fracción de molienda > 350 μm : Es la fracción retenida en el tamiz N° 45. Las observaciones realizadas permiten documentar la granulometría mediana, el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción (Figura 69 A-C). Asimismo, se reconoce la presencia de trozos que corresponden a diferentes partes de la semilla. Estos incluyen: restos de endosperma (Figura 69 E-F), restos de tegumento seminal que permanece en contacto con el endosperma (Figura 69 D), porciones que incluyen tegumento seminal, endosperma y parte del embrión (Figura 69 G); partes del epicarpo constituidas principalmente por fibras lignificadas conformando paquetes (Figura 69 E-F).

Fracción de molienda <350 μm : Es la fracción que pasa por el tamiz tamiz N° 45. Las observaciones realizadas permiten apreciar el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción y la granulometría fina (Figura 70 A-B). Se advierte escasa presencia de partes del epicarpo representado principalmente por fibras (Figura 70 C) y restos menores del endosperma (Figura 70 D-E). Fundamentalmente esta fracción está constituida por porciones de parénquima reservante del cotiledón, eje del embrión y los cuerpos proteicos mayoritariamente aglutinados a raramente aislados (Figura 70 F-H).

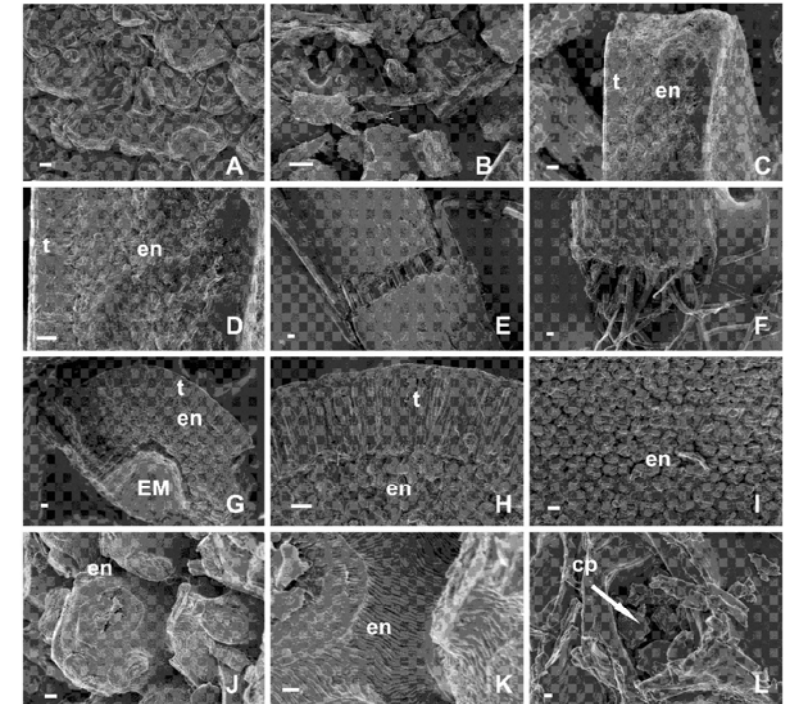


Figura 68. A-L, *P. alba* Griseb., molienda, fracción > 420 μm , observaciones con FESEM: A-B, aspectos generales; C-D, tegumento seminal y endosperma, aspecto general y detalle, respectivamente; E-F, fibras del epicarpo; G, tegumento seminal endosperma y embrión; H, testa seminal y endosperma; I-K, endosperma: I, aspecto general; J-K, detalles; L, célula del cotiledón con cuerpos proteicos. cp = cuerpos proteicos; EM = embrión; en = endosperma; t = tegumento seminal. Escalas: A = 3 μm ; B = 100 μm ; C-D, F-G = 20 μm ; E, H-I = 10 μm ; J = 2 μm ; K-L = 1 μm .

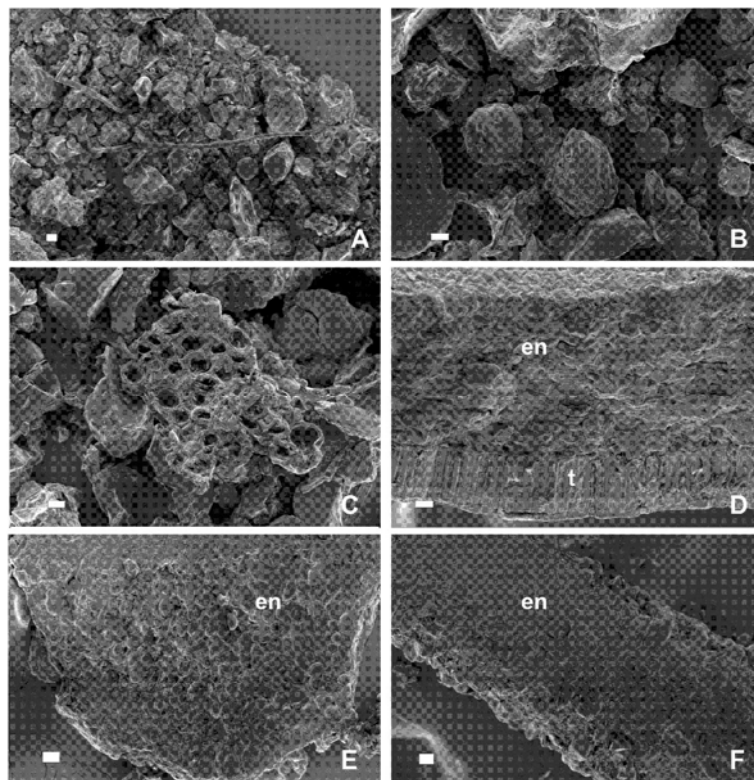


Figura 69. A-F, *P. alba* Griseb., molienda, fracción > 350 µm, observaciones con FESEM: A-C, aspectos generales; D, tegumento seminal y endosperma, aspecto general; E-F, endosperma, detalles. en = endosperma; t = tegumento seminal. Escalas: A, E-F = 20 µm; B-D = 10 µm.

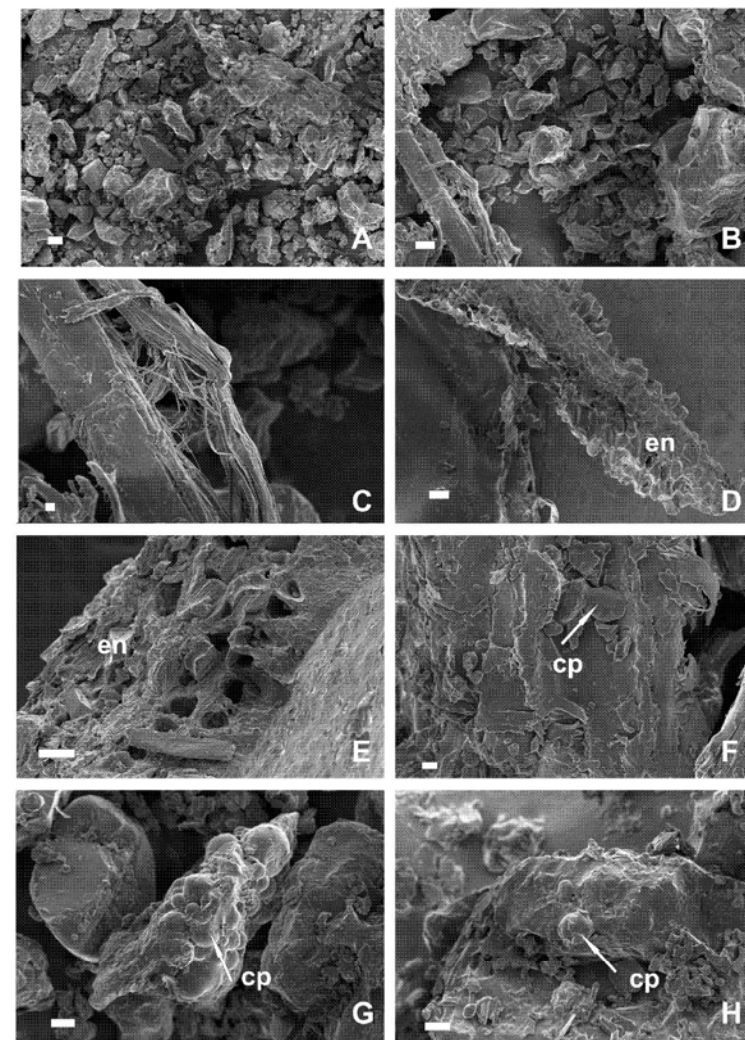


Figura 70. A-H, *P. alba* Griseb., molienda, fracción < 350 µm, observaciones con FESEM: A-B, aspectos generales; C, fibras del epicarpo; D-E, endosperma, aspectos generales; F-H, restos de cotiledón con cuerpos proteicos, detalles. cp = cuerpos proteicos; en = endosperma. Escalas: A, D = 30 µm; B, E, G-H = 10 µm; C = 2 µm; F = 3 µm.

b) *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart

Fracción de molienda > 420 μm : Es la fracción retenida en el tamiz N° 40. Las observaciones realizadas permiten apreciar la granulometría gruesa, el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción (Figura 71 A). Además, se reconoce la presencia de trozos que corresponden al fruto, en particular partes del epicarpo (Figura 71 B-D).

Se observan, además, diferentes partes de la semilla. Estas incluyen: restos de endosperma, restos de tegumento seminal que permanece en contacto con el endosperma, porciones que incluyen tegumento seminal y endosperma (Figura 71 E); numerosos cuerpos proteicos aislados o aglutinados sobre restos de epicarpo y endosperma (Figura 71 E-L).

Fracción de molienda > 350 μm : Es la fracción retenida en el tamiz N° 45. Las observaciones realizadas permiten documentar la granulometría mediana, el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción (Figura 72 A). Asimismo, se reconoce la presencia de trozos que corresponden al epicarpo (Figura 72 B-C), diferentes partes de la semilla, que incluyen: restos de endosperma, restos de tegumento seminal que permanece en contacto con el endosperma (Figura 72 D-F), cuerpos proteicos aglutinados sobre restos del endosperma (Figura 72 G-H)

Fracción de molienda <350 μm : Es la fracción que pasa por el tamiz tamiz N° 45. Las observaciones realizadas permiten apreciar el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción y la granulometría fina. No se advierte presencia de partes del epicarpo, se observan restos menores del endosperma, tegumento seminal (Figura 72 D-F). Fundamentalmente esta fracción está constituida por porciones de parénquima reservante del cotiledón y cuerpos proteicos mayoritariamente aglutinados a raramente aislados (Figura 70 A-E).

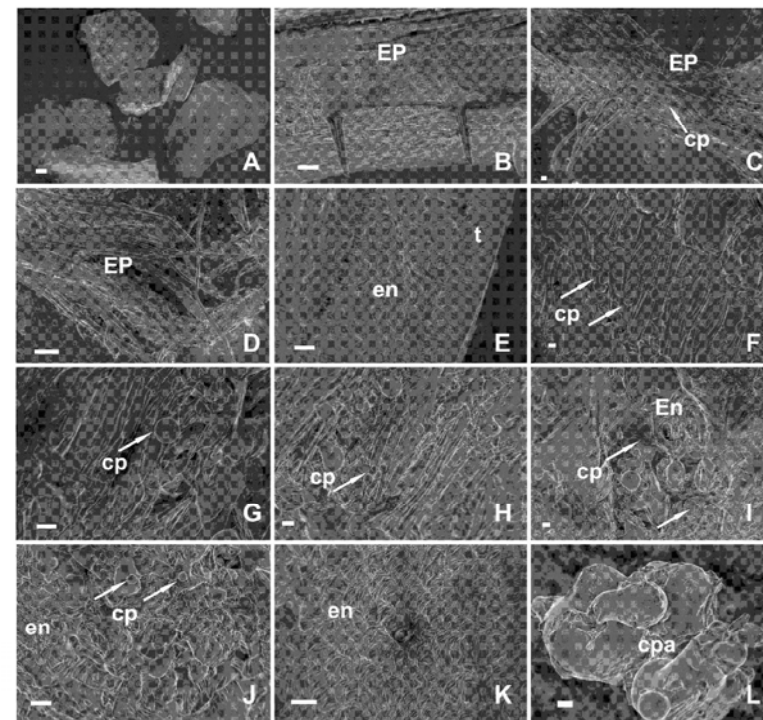


Figura 71. A-L, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, molienda, fracción > 420 μm , observaciones con FESEM: A, aspecto general; B-D, fibras del epicarpo; E, tegumento seminal y endosperma; F-H, tegumento seminal y cuerpos proteicos; I-K, endosperma y cuerpos proteicos; L, cuerpos proteicos aglutinados. cp = cuerpos proteicos; cpa = cuerpos proteicos aglutinados; en = endosperma; EP = epicarpo; t = tegumento seminal. Escalas: A = 100 μm ; B, E = 20 μm ; C, K = 10 μm ; D = 30 μm ; F-H, L = 2 μm ; I-J = 3 μm .

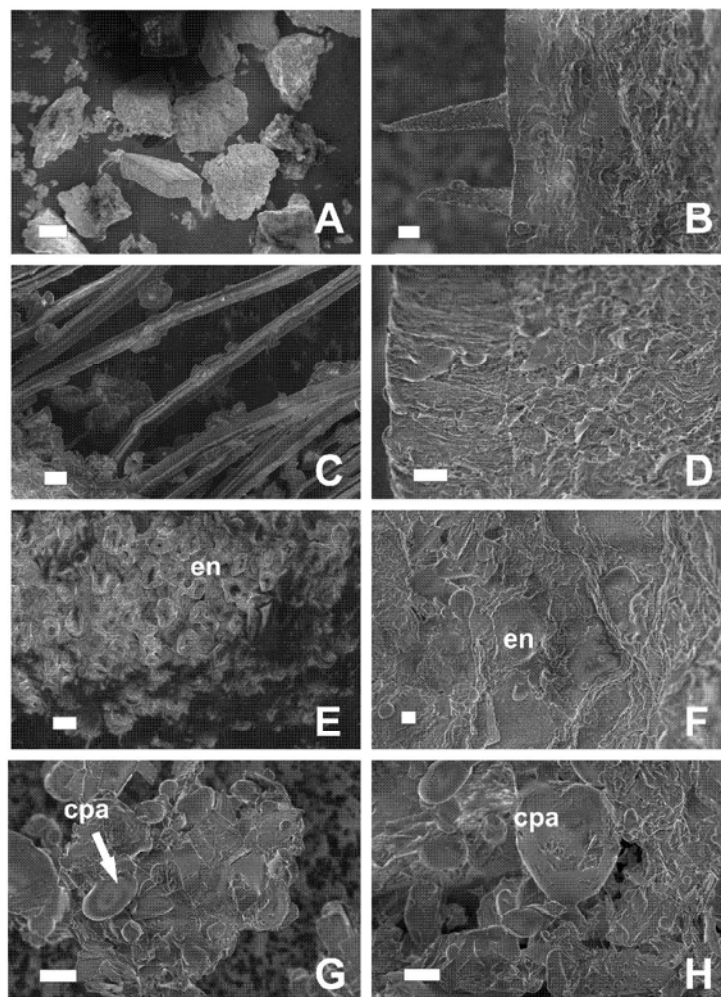


Figura 72. A-H, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, molienda, fracción > 350 µm, observaciones con FESEM: A, aspecto general; B-C, epicarpo: B, aspecto general; C, fibras del epicarpo con cuerpos proteicos, detalle; D, tegumento seminal y endosperma, aspecto general; E-F, endosperma, detalles; G-H, cuerpos proteicos aglutinados. cpa = cuerpos proteicos aglutinados: en = endosperma; EP = epicarpo; t = tegumento seminal. Escalas: A = 200 µm; B- E, G-H = 10 µm; F = 2 µm.

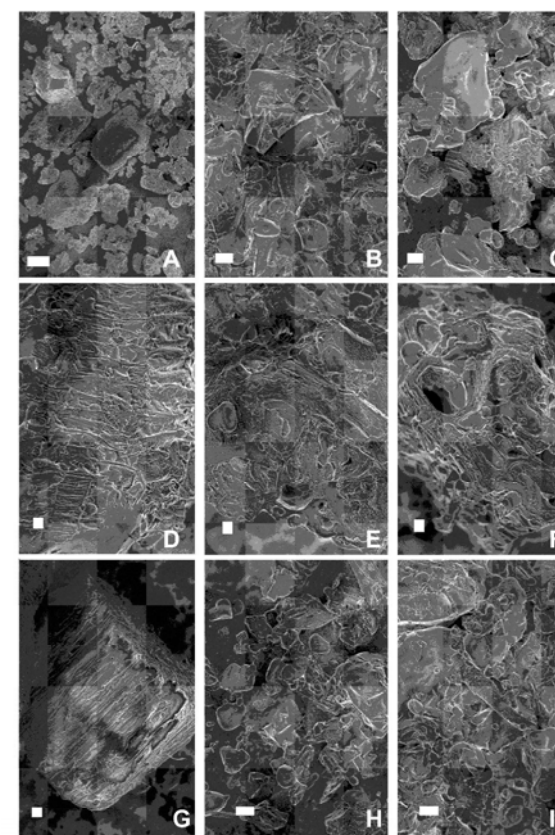


Figura 73. A-F, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, molienda, fracción < 350 µm, observaciones con FESEM: A-E, aspectos generales de la molienda: cuerpos proteicos aislados y aglutinados; D, tegumento seminal y endosperma, aspecto general; F, endosperma, detalle. cp = cuerpos proteicos; cpa = cuerpos proteicos aglutinados; en = endosperma. Escalas: A = 20 µm; B- F = 10 µm.

c) *Prosopis flexuosa* DC

Fracción de molienda > 420 μm : Es la fracción retenida en el tamiz N° 40. Las observaciones realizadas permiten apreciar la granulometría gruesa, el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción. Se reconoce la presencia de trozos que corresponden a diferentes partes del fruto, principalmente restos del epicarpo y restos de éste con cuerpos proteicos (Figura 74 A- B). Se ven además, partes de la semilla, que contienen: restos de endosperma (Figura 74 C-D), parte del embrión que consiste en restos de cotiledón y cuerpos proteicos (Figura 74 E-F).

Fracción de molienda > 350 μm : Es la fracción retenida en el tamiz N° 45. Las observaciones realizadas permiten documentar la granulometría mediana, el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción. Se reconoce la presencia de trozos que corresponden a diferentes partes del fruto, en particular restos de epicarpo (Figura 75 A), partes de la semilla, a saber: restos de tegumento seminal que permanece en contacto con el endosperma, células del cotiledón con cuerpos proteicos, restos aislados de endosperma (Figura 75 B-H).

Fracción de molienda < 350 μm : Es la fracción que pasa por el tamiz tamiz N° 45. Las observaciones realizadas permiten apreciar el aspecto general de los diferentes componentes de esta fracción y la granulometría fina. No se advierte presencia de partes del epicarpo. Se identifican: restos menores del endosperma, porciones de parénquima reservante del cotiledón y los cuerpos proteicos mayoritariamente aglutinados a raramente aislados (Figura 75 A-F).

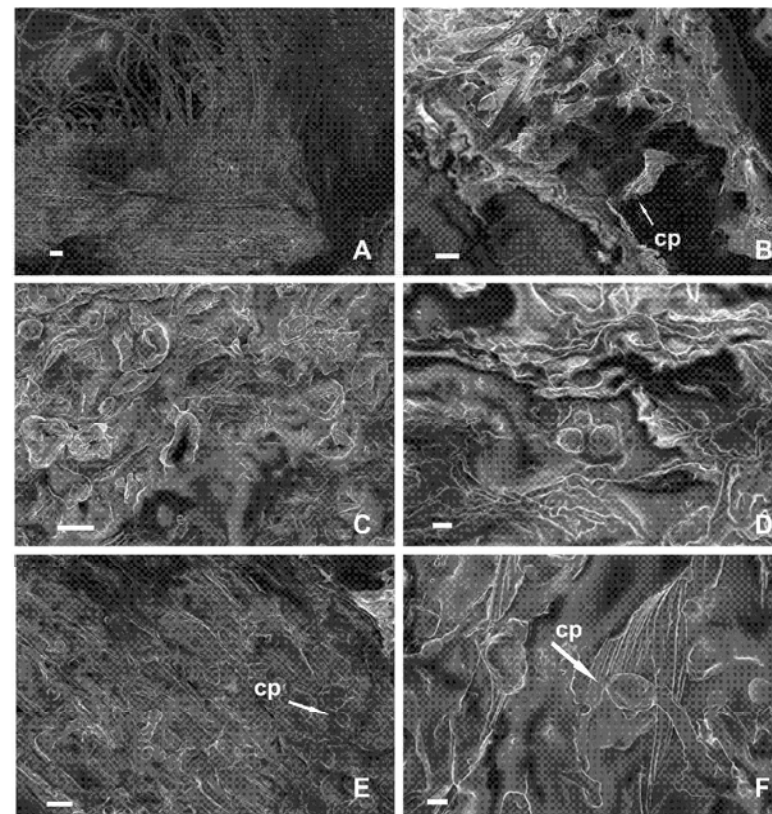


Figura 74. A-F, *P. flexuosa* DC., molienda, fracción > 420 μm , observaciones con FESEM: A, restos de epicarpo, aspecto general; B, restos de epicarpo y cuerpos proteicos, detalle; C-D, endosperma, detalles; E-F, restos de cotiledón y cuerpos proteicos: E, aspecto general; F, detalle. cp = cuerpos proteicos. Escalas: A = 20 μm ; B, C, E = 10 μm ; D = 1 μm ; F = 2 μm .

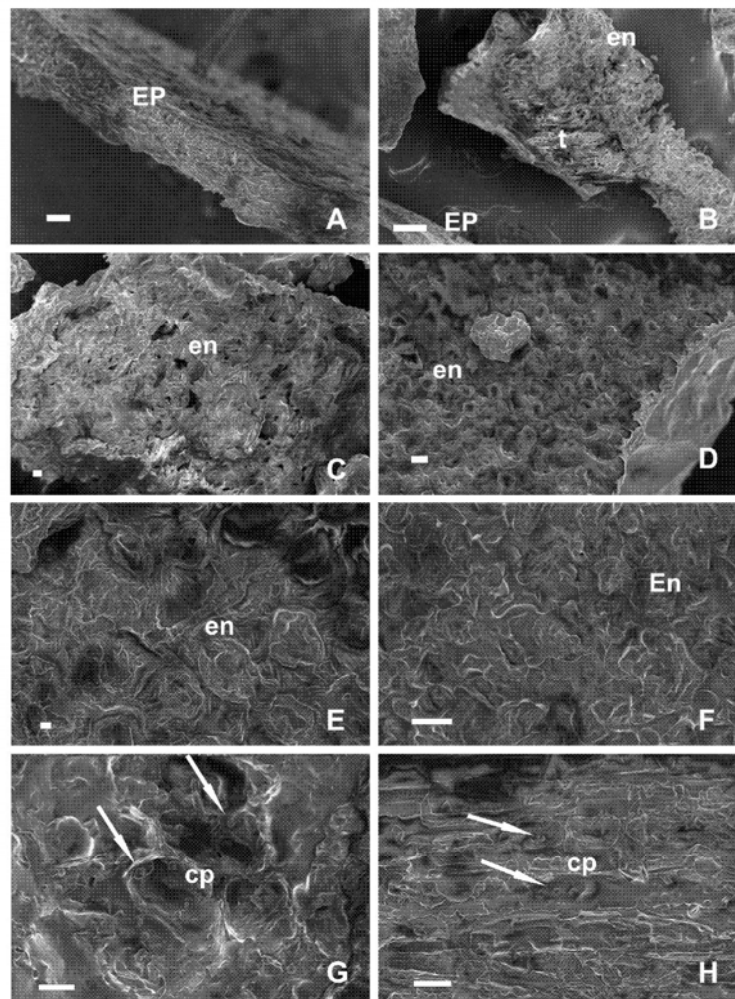


Figura 75. A-H, *P. flexuosa* DC., molienda, fracción > 350 µm, observaciones con FESEM A, restos del epicarpo; B, testa seminal y endosperma; C-F, endosperma; G-H, células del cotiledón con cuerpos proteicos, aspecto general y detalle, respectivamente. cp = cuerpos proteicos; en = endosperma; EP = epicarpo; t = tegumento seminal. Escalas: A, G = 20 µm; B = 100 µm; C-D, F, H = 10 µm; E = 2 µm; G = 20 µm.

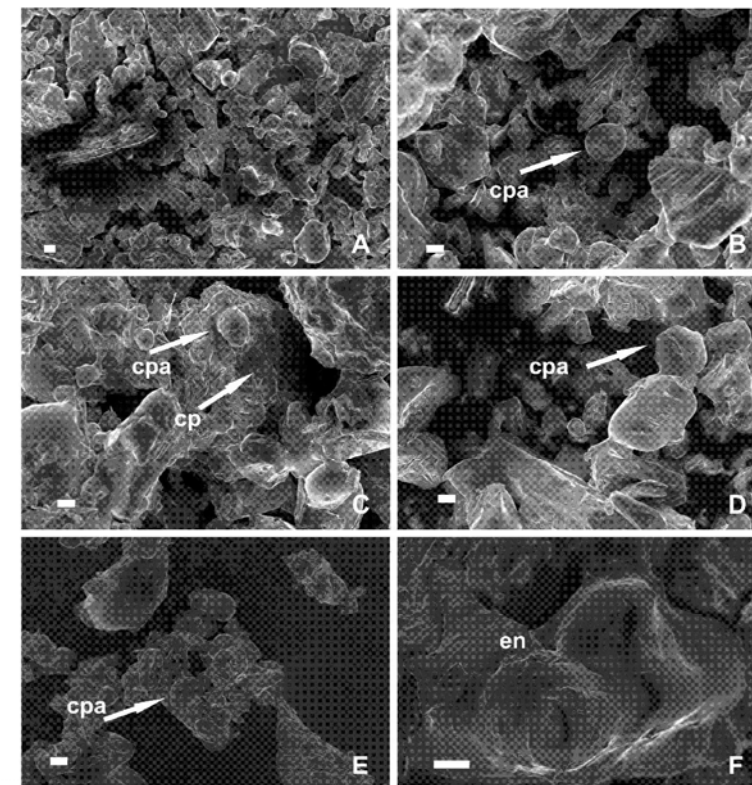


Figura 76. A-F, *P. flexuosa* DC., molienda, fracción < 350 µm, observaciones con FESEM: A-E, aspectos generales de la molienda: cuerpos proteicos aislados y aglutinados; D, tegumento seminal y endosperma, aspecto general; F, endosperma, detalle. cp = cuerpos proteicos; cpa = cuerpos proteicos aglutinados; en = endosperma. Escalas: A = 20 µm; B- F = 10 µm.

❖ Rendimiento de la molienda para las especies ensayadas

Los rendimientos totales y de cada fracción de molienda para las tres especies analizadas: *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*, se determinan aplicando las ecuaciones enunciadas en la sección 3.2.4.

En la Tabla 4, se detallan los rendimientos totales del proceso de molienda para las tres especies estudiadas, los rendimientos de las diferentes fracciones de molienda en base al fruto (R) y en base a la molienda (R_2), ambos determinados, en cada caso, en base al peso de la fracción retenida en cada zaranda en relación al peso total de frutos procesados.

Para las tres especies se registra un alto porcentaje de recuperación de harina. El mayor rendimiento se logra con *P. chilensis* ($R = 79.76\%$, $R_2 = 81.33\%$), seguida por *P. alba* ($R = 74.11\%$, $R_2 = 76.80\%$) y luego *P. flexuosa* ($R = 65.26\%$, $R_2 = 69.99\%$).

El proceso de molienda de los frutos de *P. flexuosa* es el más arduo y dificultoso, el rendimiento es el más bajo obtenido. Los frutos de esta especie poseen un endocarpo duro, muy lignificado y un mesocarpo grueso, altamente higroscópico.

Tabla 4. Rendimientos de fracciones de molienda.

Especie		menor 350	45/350	40/420	14/1410	m6/3360
<i>P. alba</i>	R	48	10	20	18	4
	R_2	52	12	22	20	5
	R_3	55	15	25	22	6
<i>P. chilensis</i>	R	55	12	22	20	5
	R_2	58	15	25	22	6
	R_3	60	18	28	25	7
<i>P. flexuosa</i>	R	45	8	18	15	3
	R_2	48	10	20	18	4
	R_3	50	12	22	20	5

La Figura 77 muestra los rendimientos de las diferentes fracciones de molienda representado mediante un diagrama de barras.

Los resultados obtenidos mediante la batería de zarandas, evidencian claramente en *P. chilensis* mayor cantidad de harina de baja granulometría (< 350 μm) con un significativo aprovechamiento del fruto.

En *P. flexuosa* se obtiene un apreciable porcentaje de harina de baja granulometría (< 350 μm). El rendimiento calculado es el más bajo obtenido (Tabla 4) y el porcentaje de fruto eliminado es elevado.

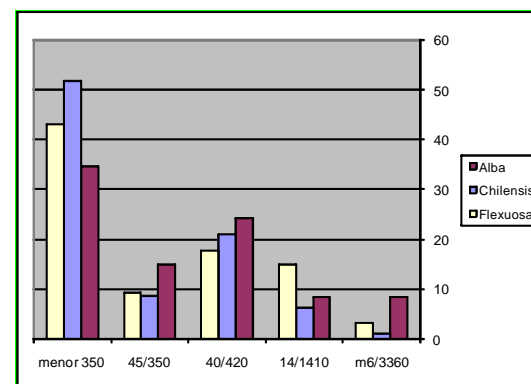


Figura 77. Diagrama de barras del rendimiento de las fracciones de molienda obtenidas para las especies estudiadas en función de N° de zaranda/tamaño en μm .

Para todas las especies se logra un considerable porcentaje de la fracción < 350 μm . En general, los frutos ensayados son ricos en azúcares, por lo cual las harinas tienden a aglutinarse y se obstruyen las zarandas de menor abertura. Por debajo de 350 μm , no es posible obtener información confiable para la distribución de tamaño. Este fenómeno constituye un factor limitante para el método de tamizado.

Con fines prácticos, para cada una de las especies estudiadas en la Tabla 5 se muestran los valores del rendimiento de molienda calculados en términos de: a) gramos de harina obtenida por kilogramo de frutos y b) kilogramos de frutos requeridos para obtener 1 kg de harina

Tabla 5. Rendimiento total de molienda

Especie	g harina/kg de frutos	kg de frutos/kg de harina
<i>P. alba</i>	760,62 g/kg	1,3147 kg/kg
<i>P. chilensis</i>	797,73 g/kg	1,2535 kg/kg
<i>P. flexuosa</i>	681,82 g/kg	1,4666 kg/kg

A escala laboratorio, los resultados encontrados reflejan, alta recuperación de harina por kilogramo de fruto procesado.

❖ Composición centesimal de las harinas en base seca

En la Tabla 6 se muestra la composición centesimal de la harina en base seca de las tres especies estudiadas. En *P. chilensis* se observa el mayor contenido graso (2,4 g/100 g de muestra seca) y proteico (13,2 g/100 g de muestra seca). En *P. alba* la mayor proporción de fibra dietaria total (36,7g/100 g de muestra seca). En *P. flexuosa* el mayor contenido de carbohidratos (51,3 g/100 g de muestra seca).

Tabla 6. Composición centesimal de las harinas en base seca de *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, *P. alba* Griseb. y *P. flexuosa* DC.

Determinaciones	Metodología	Contenido (g/100 g de muestra) en base seca		
		<i>P. chilensis</i>	<i>P. alba</i>	<i>P. flexuosa</i>
Cenizas (%C)	AOAC 923.03 (calcinación en mufla a 550 °C)	3,4	3,6	3,9
Proteína (%P)	AOAC 960.52 (micro Kjeldahl $f = 6,25$)	13,2	12,5	13,1
Grasa (%G)	AOAC 920.39 (Soxhlet, éter de petróleo)	2,4	0,7	1,7
Fibra dietaria total (%FDT)	AOAC 991.43 Total, soluble and insoluble dietary fiber in foods (enzimático-gravimétrico)	35,3	36,7	29,9
Fibra dietaria soluble (%FDS)		1,6	0,2	2,6
Fibra dietaria insoluble (%FDI)		33,7	36,5	27,7
Carbohidratos	Por diferencia, obtenidos como: $100 - (\%H + \%C + \%P + \%G + \%FDT)$	45,7	46,5	51,3

4.6. Granulometría

4.6.1. Distribución del tamaño de las partículas (DPT)

❖ Análisis de la fracción de harina insoluble en agua

Para determinar la distribución del tamaño de partícula DPT de la fracción insoluble en agua se emplea el método de difracción láser (DLS) utilizando el equipo Cilas 1180 L. Los ensayos se realizan con las fracciones de harina de *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa* utilizando zarandas de abertura decreciente: harina retenida en la zaranda N° 40 (> 450 µm), la retenida en la zaranda N° 45 (> 350 µm) y la harina pasante por esta última zaranda (< 350 µm). Las Figuras 78, 79 Y 80 muestran las distribuciones de tamaño de partícula obtenidas para cada una de las especies estudiadas.

La Figura 78 indica que la fracción más gruesa de la harina obtenida a partir de frutos de *P. alba* (A1) presenta una distribución más heterogénea y exhibe tamaños de partícula >100 µm, no detectados en las fracciones más finas (A2 y A3). Las dos fracciones de menor granulometría (A2 y A3),

presentan una distribución más homogénea y tamaño de partícula en ambos casos < 100 μm .

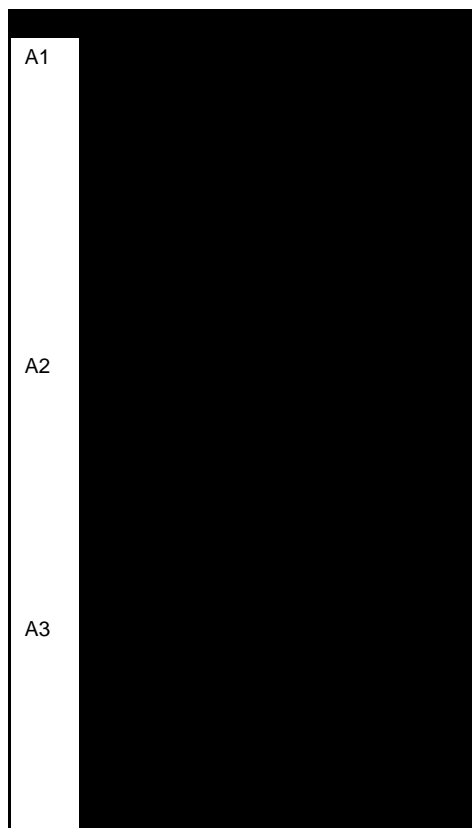


Figura 78. Distribución de tamaño de partícula de la fracción insoluble en agua para *P. alba* Griseb. A1: tamiz N° 40, A2: tamiz N° 45, A3: pasante del tamiz N° 45.

En la Figura 79, correspondiente a *P. chilensis*, todas las fracciones de molienda muestran distribuciones de tamaño de partícula similares, heterogénea, de tipo bimodal, con dos picos a 50 y 200 μm , respectivamente.

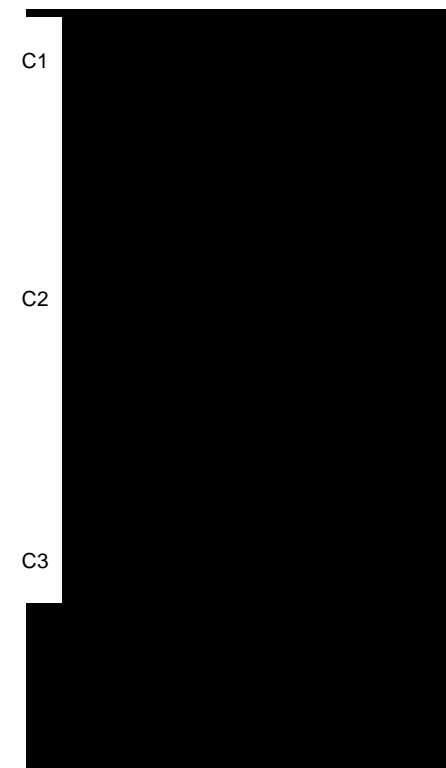


Figura 79. Distribución de tamaño de partícula de la fracción insoluble en agua para *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart. C1, tamiz N° 40; C2, tamiz N° 45; C3, pasante del tamiz N° 45.

En *P. flexuosa* (Figura 80) las tres fracciones de harina presentan distribuciones de tamaño de partícula heterogéneas, multimodales, con un pico evidente que indica predominio de un tamaño de partícula equivalente a 250 μm .

F1

F2

F3

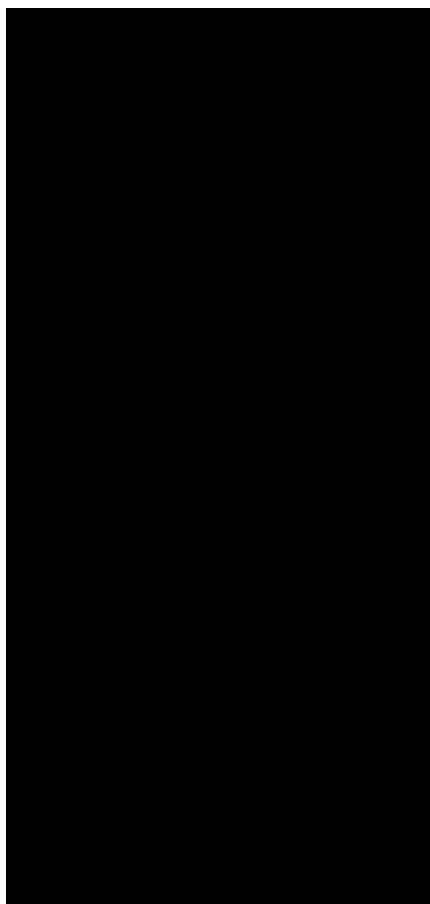


Figura 80. Distribución de tamaño de partícula de la fracción insoluble en agua para *P. flexuosa* DC. F1, tamiz N° 40; F2, tamiz N° 45; F3, pasante del tamiz N° 45.

P. flexuosa presenta los mayores diámetros medios en las tres fracciones analizadas (F1 > 420 µm: Dmedio = 138,83 µm, F2 > 350 µm: Dmedio = 188,52 µm y F3 < 350 µm: Dmedio = 117,12 µm), (Tabla 7, Figura 80). *P. chilensis* registra valores de D medio superiores a 100 µm, sólo en la fracción C2 > 350 µm.

Los parámetros característicos de las distribuciones de tamaño: media (Dmedio), mediana (D50) y percentilos (D10 y D90) de cada fracción de molienda analizada para las especies ensayadas se detallan en la Tabla 7.

Tabla 7. Parámetros de la distribución de tamaño de la fracción insoluble en agua de la harina. A: *P. alba* Griseb, C: *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, F: *P. flexuosa* DC.; 1: tamiz N° 40, 2: tamiz N° 45, 3: pasante del tamiz N° 45.

muestra	A1	A2	A3	C1	C2	C3	F1	F2	F3
D10%	6,71	12,29	12,79	9,28	6,7	7,4	5,84	10,76	7,98
D50%	71,83	55,2	65,64	57,09	70,04	50,81	141,36	205,66	96,68
D90%	244,84	132,2	173,32	211,24	309,37	208,29	287,94	345,09	250,37
Dmedio	104,97	67,64	80,95	83,39	123,95	79,73	138,83	188,52	117,12

El percentilo D 90 para las tres fracciones indica que el 90% de las partículas de la molienda tienen en *P. alba*, un diámetro estimado inferior a 132,2 - 244,84 µm; en *P. chilensis* inferior a 208,29 – 309,37 µm y en *P. flexuosa* inferior a 250,37 – 345,09 µm.

La mediana D 50 para las tres fracciones en *P. alba* y en *P. chilensis* sugiere, para el 50% de la muestra, una distribución de tamaño de partícula inferior al rango 50 – 70 µm, aproximadamente.

❖ Análisis de la fracción de harina insoluble en etanol

Se realiza en base al método de difracción láser (DLS), utilizando el equipo Mastersize 2000 para analizar las suspensiones de las distintas fracciones de harina con etanol como agente dispersante.

Las Figuras 81, 82 y 83 muestran los resultados en términos de distribución de frecuencia (A) y distribución de frecuencia acumulada (B), obtenidos para la harina final (mezcla de las tres fracciones > 420 µm, > 350 µm y < 350 µm) de las tres especies estudiadas.

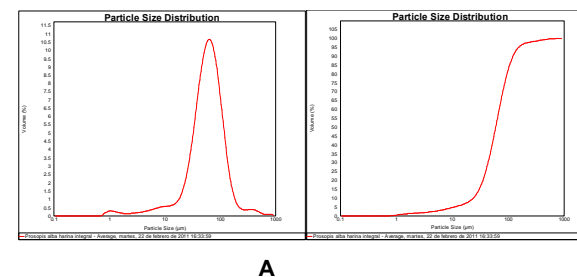


Figura 81. A-B, Distribución de tamaño de partícula en etanol para *P. alba* Griseb.

Las distribuciones de tamaño de partícula de la harina resultan monomodales en *P. alba* (Figura 81 A) y en *P. chilensis* (Figura 82 A). En la harina de *P. flexuosa* la distribución de tamaño de partícula es bimodal (Figura 83 A). En este último caso la moda correspondiente al mayor tamaño de partícula, representa una pequeña proporción de la muestra. La aparición de esta segunda moda se refleja también en la deformación de la curva sigmoidea característica de la distribución de frecuencia acumulada (Figura 83 B).

La distribución de tamaño de partícula para la harina de *P. alba* (Figura 81 A) no presenta desviación respecto de la distribución normal. En *P. chilensis* se observa una leve asimetría hacia los menores tamaños de partícula (Figura 82 A).

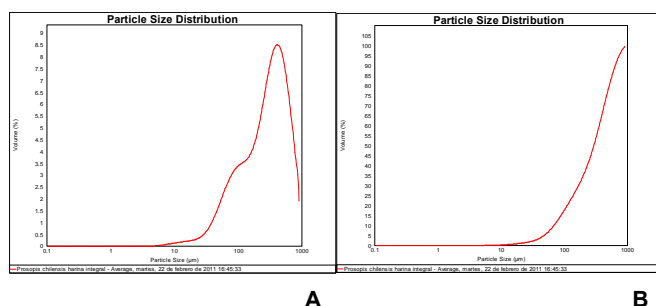


Figura 82. A-B, Distribución de tamaño de partícula en etanol para *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart.

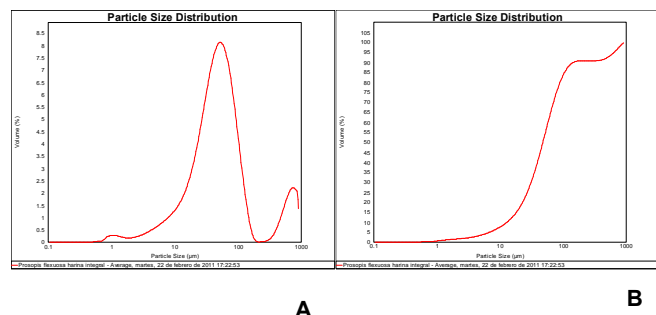


Figura 83. A-B, Distribución de tamaño de partícula en etanol para *P. flexuosa* DC.

La Tabla 8 muestra los valores de los parámetros característicos de la distribución de frecuencias acumuladas para cada una de las especies estudiadas.

Tabla 8. Parámetros característicos de la distribución de tamaño de partícula en la fracción insoluble en etanol de la harina de las especies ensayadas.

Especie	Parámetros característicos			
	D10	D50	D90	SPAN
<i>P. alba</i>	20	52,5	110	1,71
<i>P. chilensis</i>	55	255	540	1,90
<i>P. flexuosa</i>	11	42	120	2,59

Los valores de los parámetros característicos (Tabla 8), para la harina de *P. alba*, señalan tamaños de partículas < 20 µm (D10), < 52,5 µm (D50) y < 110 µm (D90). Esta harina, presenta menor dispersión, baja granulometría, distribución homogénea y el menor valor de SPAN (1,71). Para la harina de *P. chilensis* los valores sugieren la mayor granulometría, la mediana D50 y los percentilos D10 y D90, indican tamaños de partícula < 255 µm, < 55 µm y < 540 µm, respectivamente. *P. chilensis*, con la mayor granulometría registra un valor de SPAN intermedio (1,90). La harina de *P. flexuosa* con baja granulometría, muestra la mayor dispersión de la distribución de tamaño de partículas, valor de SPAN (2,59). *P. alba* es la más homogénea. Respecto de *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa* resultan menos homogéneas, 10 % y 51 %, respectivamente.

Las distribuciones de tamaño de partícula (frecuencia) para las tres especies ensayadas revelan el valor de la moda en *P. alba* equivalente a 69,18 µm. Este valor es comparativamente menor al encontrado en *P. chilensis* (363.078 µm). En *P. flexuosa*, la distribución, como se menciona en párrafos anteriores, es bimodal con valores de modas: 52.481 y 724.436 µm. Como se observa, *P. alba* y *P. flexuosa* presentan partículas con tamaño inferior a 100 µm. Esta fina granulometría corresponde a una harina de grado I. Ambas registran, además una muy baja proporción de harina micrónica (Figura 84 A-B)

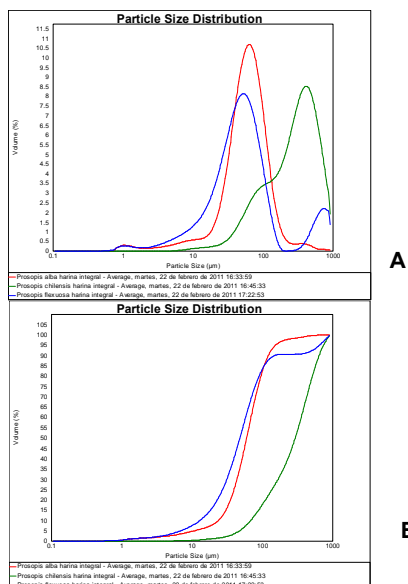


Figura 84. Comparación entre las distribuciones de tamaño de partícula para las tres especies ensayadas: A, curvas de frecuencia; B, curvas de frecuencia acumulada

El análisis de las distribuciones de frecuencias para las tres especies corrobora que las harinas de *P. alba* y *P. flexuosa* presentan menor granulometría que la harina de *P. chilensis*. Los valores de la mediana (D50) 52.5 μm , 255 μm y 42 μm , corresponden a *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*, respectivamente (Figura 84 A-B). En el caso de *P. flexuosa* las modas son 52, 2 μm y 724,4 μm . La moda con valor 724.436 μm abarca una fracción con tamaño de partículas entre 363 – 995 μm que corresponde, aproximadamente, al 9 % de la molienda. Las modas para *P. chilensis* y *P. alba* son 363,1 μm y 69,18 μm , respectivamente.

❖ Análisis DTP, D50 (fracciones insolubles en agua y en etanol) y MODA (fracciones insolubles en agua y en etanol)

Se realiza la comparación de las distribuciones de tamaño de las partículas (DTP) de las harinas de las especies ensayadas para las

fracciones insolubles en agua y en etanol para analizar D50 y la moda en cada caso.

Para la harina insoluble en agua se calculan los promedios ponderados para cada una de las fracciones (> 420 μm , > 350 μm y < 350 μm) utilizando como factor de ponderación los rendimientos de cada fracción (Tabla 4, Tabla 9).

Tabla 9 Comparación entre D50 y MODA para la fracción insoluble en agua y en etanol en la harina de *P. alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC.

Especie	D50		MODA	
	Harina insoluble. (en agua)	Harina (en etanol)	Harina insoluble (en agua)	Harina (en etanol)
<i>P. alba</i>	50,34	52,5	91,68	69,18
<i>P. chilensis</i>	44,3	255	67,24	363,1
<i>P. flexuosa</i>	85,72	42	152,7	52,5 724,4

En *P. alba*, los valores informados (moda, mediana) son muy pequeños (<100 μm), no se identifican fracciones finas y gruesas asociadas a las fracciones insoluble y soluble. Las medianas (D50) de la fracción insoluble y de la harina resultan semejantes. La diferencia observada entre la granulometría de la harina y la de la fracción insoluble, en base a los valores de la moda, es del 20%. La diferencia para las otras especies analizadas es 80%. La molienda presenta muy fina granulometría de todos los componentes (solubles en agua e insolubles en etanol) de la harina

En *P. chilensis*, la mediana y la moda indican que la mayor granulometría está en la fracción de harina en etanol. La fracción insoluble en agua registra valores muy bajos de granulometría (< 80 %). Sugiriendo que la fracción de mayor granulometría rica en carbohidratos (azúcares) correspondería a la fracción soluble en agua.

En *P. flexuosa*, la moda indica que la mayor granulometría está en la harina y no en la fracción insoluble en agua. La diferencia entre los valores es de 79%. *P. flexuosa* tiene una distribución bimodal por lo tanto, la moda es un estimador más representativo de la DTP que la mediana (D50). La fracción insoluble en agua tiene una granulometría > 100 µm equivalente a 152, 7 µm (Tabla 9).

❖ Frecuencia acumulada de DTP. Ecuación de RRB

Las diferencias entre los valores de la mediana D50 y moda observadas para las fracciones insoluble en agua e insoluble en alcohol en las especies *P. chilensis* y *P. flexuosa* ameritan realizar el ajuste de los datos experimentales obtenidos para la fracción de harina insoluble en etanol. Para tal fin, los datos experimentales de frecuencia acumulada (y) en función del tamaño de partícula (x), de los registros del equipo Mastersize 2000, se ajustan mediante el modelo de Rosin-Rammler-Bennet (RRB). Este equipo tiene la ventaja de abarcar un rango de tamaño de partículas, hasta 1000 µm.

Se utiliza el módulo de regresión no lineal del paquete estadístico Statgraphics® para obtener los parámetros del modelo (Tabla 10).

Tabla 10. Parámetros del modelo de RRB.

Especie	Parámetros		Coeficiente de determinación
	n	x_{63}	
<i>P. alba</i>	1,83897	65,3	0,9987
<i>P. chilensis</i>	1,36495	322,4	0,9985
<i>P. flexuosa</i>	1,23216	51,05	0,98855

En todos los casos, el modelo de RRB proporciona un ajuste muy satisfactorio de los datos experimentales. El mejor ajuste se logra en *P. alba* con un coeficiente de determinación de 0.9987. Las Figuras 85, 86 y 87

muestran claramente los resultados del ajuste obtenido para cada una de las especies ensayadas. *P. alba* presenta el mayor valor de n ($n = 1,83897$) que indica mayor uniformidad o una molienda más homogénea. *P. chilensis* tiene un valor $n = 1,36495$ y *P. flexuosa* un valor $n = 1,232004$.

Gráfica del Modelo Ajustado

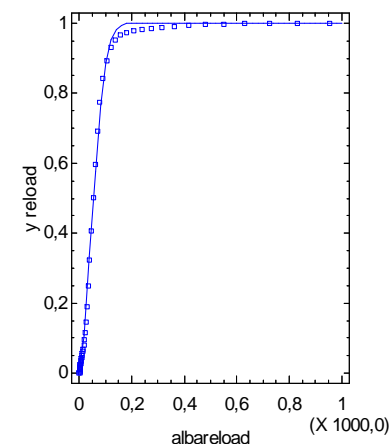


Figura 85. *P. alba* Griseb., ajuste de la distribución acumulada de la harina

En *P. chilensis*, la distribución no es perfectamente normal – monomodal; el coeficiente de determinación $R^2 = 0.9985$, se ajusta según el RRB.

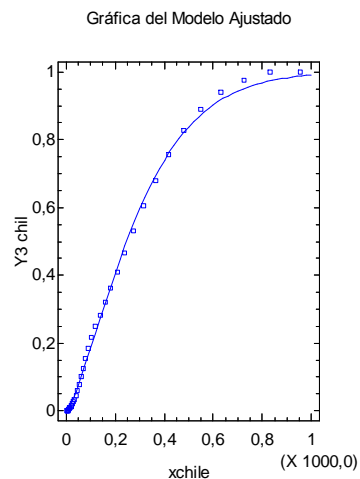


Figura 86. *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, ajuste de la distribución acumulada de la harina.

En *P. flexuosa*, con una distribución bimodal, el modelo presenta algunos inconvenientes para su ajuste (Figura 87). El coeficiente de determinación $R^2 = 0,98855$, es levemente inferior a los registrados en las dos especies restantes.

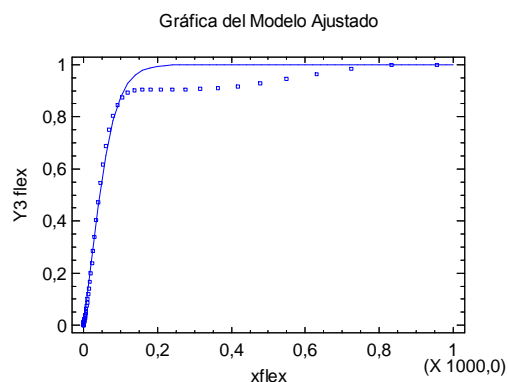


Figura 87 *P. flexuosa* DC., ajuste de la distribución acumulada de la harina.

En *P. flexuosa* la distribución es bimodal; las modas son 52, 5 y 724,4. En la Tabla 9 solo se menciona $x_{63} = 51,05$.

4.7. Capacidad de absorción de agua

La Tabla 11 muestra para las especies analizadas los valores de: capacidad de absorción de agua (CAA), índice de absorción de agua (IAA), Índice de solubilidad de agua (ISA) y la solubilidad (S).

Tabla 11. Valores experimentales de CAA, IAA, ISA y S en *P. alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC.

ESPECIE		CAA	CAA	IAA	ISA	S
		g agua /g muestra	%	g sedim/gss	sb/ss %	g/ml
<i>P. alba</i>	1	2,81		3,84	28,76	0,031
	2	3,03		4,07	22,02	0,026
	3	2,86		3,9	29,85	0,035
	Σ	8,7		11,81	80,63	0,092
	promedio + ES	2,9 \pm 0,111	290,13 \pm 11,110	3,94 \pm 0,11	26,88 \pm 3,92	0,030 \pm 0,004
<i>P. chilensis</i>	5	1,8		2,9	35,62	0,04
	6	1,82		2,93	32,61	0,037
	7	1,79		2,9	28,08	0,03
	Σ	5,41		8,73	96,3	0,107
	promedio + ES	1,8 \pm 0,011	180,19 \pm 1,108	2,91 \pm 0,012	32,1 \pm 3,772	0,036 \pm 0,005
<i>P. flexuosa</i>	8	1,33		2,42	60,43	0,066
	9	1,23		2,31	59,72	0,064
	10	1,14		2,22	60,13	0,064
	Σ	3,69		6,95	180,28	0,194
	promedio + ES	1,23 \pm 0,10	123,17 \pm 9,87	2,31 \pm 0,102	60,09 \pm 0,357	0,065 \pm 0,001

Según los resultados obtenidos, *P. alba* presenta valores promedios más altos de CAA = 2,9 \pm 0,111 y de IAA = 3,94 \pm 0,11. *P. chilensis* registra valores de CAA = 1,8 \pm 0,011 y de IAA = 2,91 \pm 0,012. En *P. flexuosa* los valores son CAA = 1,23 \pm 0,10 y IAA = 2,31 \pm 0,102.

P. alba es la harina con menor tamaño de partícula, posee una mayor superficie de contacto con el agua, absorbe casi tres veces su peso en agua; *P. chilensis* 1,8 veces y *P. flexuosa* 1,2 veces. Estos valores están relacionados con el DTP analizado en inciso 4.6.1.

En cuanto a la solubilidad, *P. flexuosa* presenta el mayor valor promedio S = 0,065 \pm 0,001. *P. chilensis* tiene un valor promedio S = 0,036 \pm 0,005 y *P. alba* tiene un valor promedio inferior S = 0,030 \pm 0,004.

Los residuos solubles obtenidos luego de ser evaporada el agua en estufa, presentan color amarillo oscuro en *P. alba*, amarillo muy claro en *P. chilensis* y color caramelo en *P. flexuosa*,

En el caso, los valores promedio ISA (%) fueron: para *P. flexuosa* ISA = $60,09 \pm 0,357$; *P. chilensis* ISA = $32,10 \pm 3,772$ y *P. alba* ISA = $26,88 \pm 3,92$, concordando con lo obtenido para la solubilidad (S).

4.8. Capacidad de absorción de grasa

La Tabla 12 muestra los valores calculados del índice de absorción de grasa (aceite) para las especies ensayadas.

Tabla 12. CAG en *P. alba* Griseb., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart y *P. flexuosa* DC.

ESPECIE	CAG
	g aceite/g muestra
<i>P. alba</i>	1,9
	1,56
	1,59
Σ	5,05
promedio + ES	$1,68 \pm 0,153$
<i>P. chilensis</i>	
	1,38
	1,29
	1,41
Σ	4,08
promedio + ES	$1,36 \pm 0,018$
<i>P. flexuosa</i>	
	1,21
	1,26
	1,18
Σ	3,65
promedio + ES	$1,22 \pm 0,038$

Los valores promedio de CAG para las harinas difieren en las especies ensayadas. La harina de *P. alba* absorbe la mayor cantidad de aceite, CAG = $1,68 \pm 0,153$. *P. chilensis* registra un valor promedio CAG = $1,36 \pm 0,018$ y *P. flexuosa* CAG = $1,22 \pm 0,038$. Respecto a *P. alba* la capacidad de absorción de aceite se reduce 19,05 % en *P. chilensis* y 27,38 % en *P. flexuosa*.

4.9. Color

❖ Ensayos de determinación del color espacio CIELAB

Utilizando el fotocolorímetro se determinan los parámetros de color (CIELAB) para la harina de las especies analizadas. La Tabla 13 indica los valores de las coordenadas luminosidad (L^*) y cromaticidad (a^* y b^*) de la harina. Se incluye los valores de la diferencia de color (ΔE) entre harinas de distintas especies.

Tabla 13. Parámetros de color de las harinas en base al sistema CIELAB

ESPECIES	<i>P. alba</i>	<i>P. chilensis</i>	<i>P. flexuosa</i>	$\Delta (P.alba-P.flexuosa)$	$\Delta (P.alba-P.chilensis)$	$\Delta (P.chilensis-P.flexuosa)$
L^*	52,53	64,25	72,08	-19,55	-11,72	-7,83
	54,42	64,86	71,33	-16,91	-10,44	-6,47
	53,15	65	70,7	-17,55	-11,85	-5,7
Σ	160,1	194,11	214,11			
promedio + ES	$53,37 \pm 0,945$	$64,67 \pm 0,375$	$71,37 \pm 0,69$			
a^*	3,24	3	1,34	1,9	0,24	1,66
	3,27	2,71	1,39	1,88	0,56	1,32
	3,64	2,93	1,34	2,3	0,71	1,59
Σ	10,15	8,64	4,07			
promedio + ES	$3,38 \pm 0,2$	$2,88 \pm 0,145$	$1,36 \pm 0,025$			
b^*	23,58	26,05	17,82	5,76	-2,47	8,23
	25,21	25,52	17,85	7,36	-0,31	7,67
	24,78	25,67	18,16	6,62	-0,89	7,51
Σ	73,57	77,24	53,83			
promedio + ES	$24,52 \pm 0,815$	$24,08 \pm 2,67$	$17,94 \pm 0,17$			
ΔE				3,45	3,73	1,44
				2,77	3,19	1,59
				2,94	3,47	1,84
promedio + ES				$3,05 \pm 0,34$	$3,46 \pm 0,27$	$1,62 \pm 0,20$

La harina de *P. flexuosa* registra el mayor valor de luminosidad (L^*). En las tres especies, los valores del parámetro a^* (verde – rojo) resultaron positivos indicando preponderancia del color rojo sobre el verde. Los valores del parámetro b^* (azul – amarillo), en las tres especies, resultan positivos sugiriendo primacia del color amarillo sobre el color azul. La harina de *P. flexuosa* es la de menor componente amarillo ($b^* = 17,94 \pm 0,17$) y la de *P. alba* registra mayor tendencia al rojo ($a^* = 3,38 \pm 0,2$).

Al analizar el ΔE , el mayor valor promedio corresponde a *P. alba* - *P. chilensis* con $\Delta E = 3,46 \pm 0,27$; el menor valor afecta a *P. chilensis* - *P. flexuosa* $\Delta E = 1,62 \pm 0,20$. *P. alba* - *P. flexuosa* exhibe un $\Delta E = 3,05 \pm 0,34$ semejante al encontrado en *P. alba* - *P. chilensis*. Escasa diferencia de color se registra para *P. flexuosa* - *P. chilensis*.

❖ Diferencias de color en base a coordenadas cromáticas

En la Tabla 14 se muestran los valores promedio triestímulo (X, Y, Z) juntamente con los correspondientes a las coordenadas cromáticas (x, y) calculadas para cada una de las especies estudiadas.

Tabla 14. Valores triestímulo promedio (X, Y, Z) y coordenadas cromáticas (x, y)

Especie	X	Y	Z	x	y
<i>P. alba</i>	21,018	21,387	11,693	0,388	0,395
<i>P. chilensis</i>	32,670	33,670	19,835	0,380	0,390
<i>P. flexuosa</i>	41,728	42,728	31,784	0,355	0,370

La Figura 88, representa el espacio cromático que permite visualizar la ubicación de las harinas estudiadas.

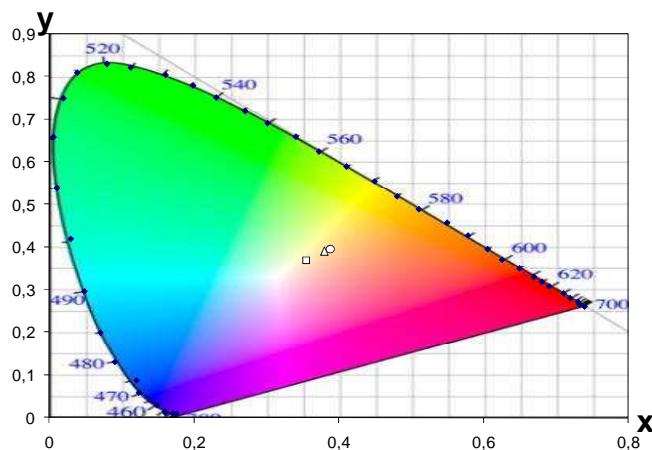


Figura 88. Ubicación de las harinas en el espacio cromático.

○ *P. alba* Griseb.; Δ *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart; □ *P. flexuosa* DC.

Las tres harinas se ven confinadas en un sector estrecho del espacio cromático x - y. Se diferencia claramente la harina obtenida de *P. flexuosa*, respecto de las dos restantes. Sin embargo, este resultado no coincide con el valor ΔE obtenido (Tabla 13), que indica la mayor diferencia entre *P. alba* y *P. chilensis*. Esta diferencia se debe a que en el espacio cromático x - y (Figura

88) no se contempla la luminosidad de las harinas para ubicar los puntos representativos de cada una de ellas. Dado que las harinas estudiadas muestran valores diferentes de luminosidad, el análisis en base al espacio cromático proporciona una falsa ubicación de las mismas al considerar que están todas en el mismo plano.

❖ Análisis estadístico de diferencias significativas entre atributos de color

En vista de los resultados obtenidos hasta aquí y con el propósito de establecer si las diferencias entre especies observadas en la Tabla 13 son o no son significativas, se aplica el programa Statgraphics® para las pruebas estadísticas de comparación múltiple (Test de Tukey) y se utilizan los valores promedio (medias) de las coordenadas de color (L^* , a^* , b^*), de cada una de las especies estudiadas. En la parte superior de la Tabla 15 se dan los valores promedio del parámetro L^* para cada especie. En la mitad inferior (tabla contraste) se muestra la diferencia estimada entre cada par de medias con su error (\pm Limi). El asterisco indica que existe una diferencia estadísticamente significativa a un nivel de confianza del 95.0%. Es decir, hay un 5.0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando en realidad no lo son. Se identifican los grupos homogéneos según la alineación del signo X. En cuanto a la luminosidad (L^*), existen diferencias estadísticamente significativas entre las harinas estudiadas (Figura 89).

Tabla 15. Análisis de L^* . Contraste múltiple de rango. Método 95.0 porcentaje HSD de Tukey

ESPECIE	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
<i>P. alba</i>	3	52,3667	X
<i>P. chilensis</i>	3	64,7022	X
<i>P. flexuosa</i>	3	71,37	X

Contraste

ESPECIES	Diferencias	\pm Limi
<i>P. alba</i> - <i>P. chilensis</i>	* \pm 11,3367	1,80921
<i>P. alba</i> - <i>P. flexuosa</i>	* \pm 18,0033	1,80921
<i>P. chilensis</i> - <i>P. flexuosa</i>	* \pm 6,66667	1,80921

*indica una diferencia significativa

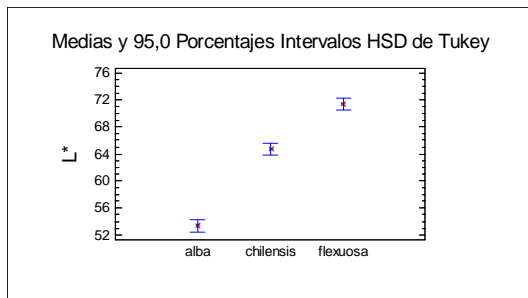


Figura 89. Intervalos de confianza de los valores de Luminosidad.

En las Tablas 16 y 17 y en las Figuras 90 y 91 se muestran los resultados de las pruebas estadísticas para establecer diferencias significativas entre los parámetros de color a^* y b^* de las harinas analizadas

Tabla 16. Análisis de a^* . Contraste múltiple de rango. Método 95.0 porcentaje HSD de Tukey

ESPECIE	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
<i>P. flexuosa a</i>	3	1,35667	X
<i>P. chilensis a</i>	3	2,88	X
<i>P. alba a</i>	3	3,38333	X

Contraste

ESPECIES	Diferencias	± Limi
<i>P. alba a</i> – <i>P. chilensis a</i>	*0,50333	0,391779
<i>P. alba a</i> – <i>P. flexuosa a</i>	*2,02667	0,391779
<i>P. chilensis a</i> – <i>P. flexuosa a</i>	*1,52333	0,391779

*indica una diferencia significativa

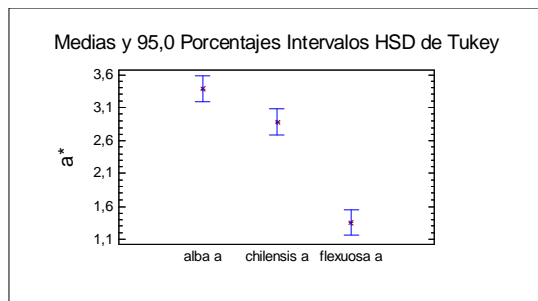


Figura 90. Intervalos de confianza de los valores del parámetro de cromaticidad a^* .

Se observa que los valores de a^* para *P. alba* y *P. chilensis* se aproximan (Figura 90). Existen diferencias significativas en los valores de a^* entre las tres especies estudiadas.

Tabla 17. Análisis de b^* . Contraste múltiple de rango. Método 95.0 porcentaje HSD de Tukey

ESPECIE	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
<i>P. flexuosa b</i>	3	17,9433	X
<i>P. alba b</i>	3	24,5233	X
<i>P. chilensis b</i>	3	25,7467	X

Contraste

ESPECIES	Diferencias	± Limi
<i>P. alba b</i> – <i>P. chilensis b</i>	-1,22333	1,31273
<i>P. alba b</i> – <i>P. flexuosa b</i>	*6,58	1,31273
<i>P. chilensis b</i> – <i>P. flexuosa b</i>	*7,80333	1,31273

*indica una diferencia significativa

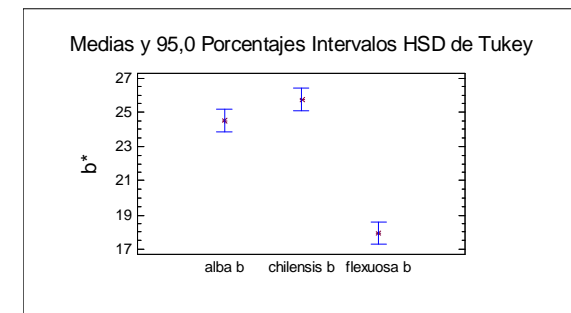


Figura 91. Intervalos de confianza de los valores del parámetro de cromaticidad b^* .

La prueba estadística para el parámetro b^* , permite establecer dos grupos: la harina de *P. flexuosa*, con los menores valores de b^* y por otro lado las harinas de las dos especies restantes (*P. alba* y *P. chilensis*), con valores mayores de b^* , que no presentan diferencias significativas entre sí. Este resultado, coincide con el obtenido en base al espacio cromático (Figura 88).

Finalmente, en cuanto a la tendencia a la luminosidad (L^*), *P. flexuosa* (71,37) > *P. chilensis* (64,70) > *P. alba* (52,37); a la tendencia al rojo (a^*), *P. alba*

(3,38) > *P. chilensis* (2,88) > *P. flexuosa* (1,36) y en cuanto a la tendencia al amarillo, *P. chilensis* (25,75) > *P. alba* (24,52) > *P. flexuosa* (17,94).

4.10. Propuesta de mezcla de harinas libre de gluten

Se propone una mezcla de harinas libre de gluten, apta para celíacos. El producto, de simple formulación, está constituido por: 40 % harina de *P. chilensis*, 18 % harina de arroz, 18 % fécula de mandioca, 21 % almidón de maíz y 3 % de bicarbonato de sodio. A partir de esta mezcla se elabora un budín.

Luego, se preparó un segundo budín empleando la mezcla que incluye: 40 % harina de *P. alba*, 18 % harina de arroz, 18 % fécula de mandioca, 21 % almidón de maíz y 3 % de bicarbonato de sodio.

El budín elaborado a partir de la harina de *P. alba*, presenta una corteza rugosa, fracturas en general cortas con trayectoria oblicua, sinuosa y/o transversal poco profundas, la miga es heterogénea, gruesa, de color castaño oscuro, y se desarma con facilidad. Al FESEM, la porosidad es notable y está conformada por poros de forma y dimensiones variables (Figura 92 A-C; Figura 93 A-C)).

El budín elaborado a partir de harina de *P. chilensis*, presenta una corteza lisa, uniforme, con pocas fracturas. Estas últimas, cuando están presentes, resultan profundas, largas y de trayectoria longitudinal. También se ven (2 – 3) fisuras más superficiales, cortas oblicuas y/o longitudinales. En ocasiones el budín preparado con la mezcla propuesta, presenta una superficie lisa, sin fisuras profundas y con hasta dos fisuras superficiales, cortas y de trayectoria longitudinal. La miga es compacta, fina bastante homogénea, con tendencia a mantenerse cohesionada, cuesta desarmarla. El color es pardo amarillento a simple vista. Al FESEM, respecto de *P. alba* la porosidad se observa algo reducida, los poros son más pequeños, de forma y dimensiones variables (Figura 92 D-F; Figura 93 D-F).

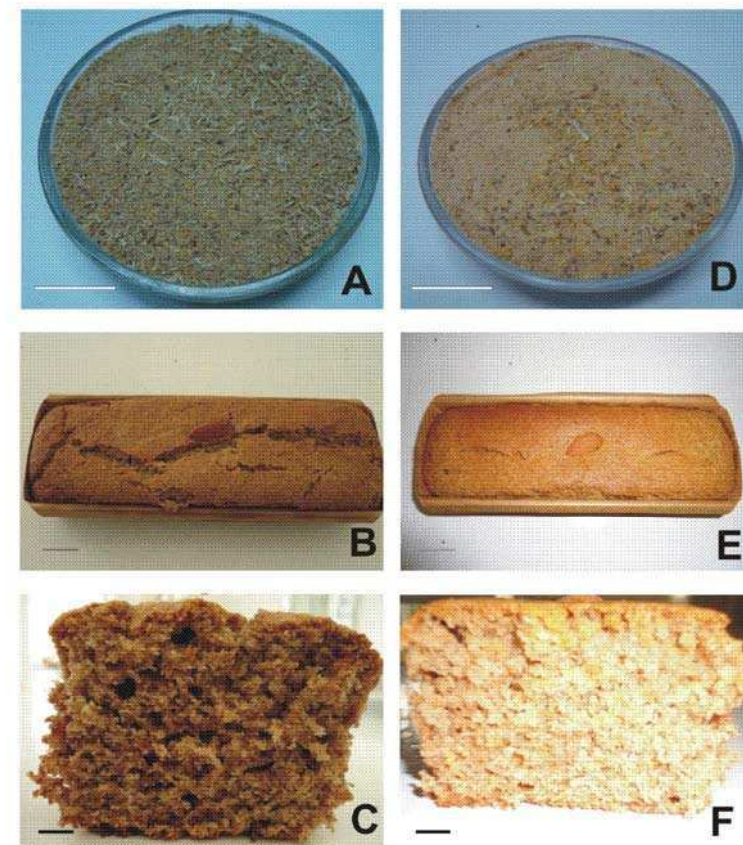


Figura 92. A-C, *P. alba* Griseb., A, harina; B-C, budín libre de gluten elaborado a partir de la mezcla propuesta: B, aspecto general; C, corte transversal; D-F, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, D, harina; E-F, budín libre de gluten elaborado a partir de la mezcla propuesta: E, aspecto general; F, corte transversal. Escalas: A-B, D-E = 2,50 cm; C-F = 1 cm.

5. Discusión

La mayoría de los países en vías de desarrollo, donde los cultivos no prosperan lo suficiente, por las condiciones climáticas de aridez, progresivo deterioro y erosión, enfrentan hoy la grave situación del crecimiento de su población con la consecuente demanda de alimento.

Esta investigación interdisciplinaria, como aporte a la ciencia básica y aplicada, contribuyó al diseño de tecnologías de molienda para optimizar la producción de harinas de algarrobo, con alto contenido proteico.

Se realizó el estudio comparativo estructural y de las propiedades funcionales de las moliendas de *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*. Se consideró a *P. alba*, como control dado que al inicio de esta investigación se trataba de la única harina de “algarrobo” más conocida, difundida y utilizada, incluida en el Código Alimentario Argentino (CAA, 1960). En 2010, se incorporó la segunda especie *P. nigra*, “algarrobo negro” (**Artículo 681 y 681 bis – Resolución Conjunta SPReI N°56/2010 y SAGyP N° 538/2010**).

El conocimiento de los caracteres estructurales (micro, ultra y nano) de frutos control y de las moliendas obtenidas a escala laboratorio a partir del diseño experimental del proceso propuesto, permitió documentar los principales caracteres anatómicos observados e interpretar las alteraciones ocurridas durante el proceso de molienda ensayado. El estudio de las propiedades físicas: color, granulometría, capacidad de absorción de agua, de grasa/aceite y los análisis químicos: proteínas, azúcares, lípidos, fibras, minerales, aportó datos útiles, aplicables al pronóstico de la funcionalidad y valor nutricional del producto final.

En la actualidad, la recolección o cosecha de los frutos maduros, según la bibliografía, en las comunidades locales se efectúa en forma manual, levantándolos directamente del suelo. En localidades de la provincia de Formosa, los análisis microbiológicos de la harina de los frutos de *P. alba*, recolectados directamente del suelo, determinaron presencia de hongos, levaduras, *E. coli* y otros coliformes (INTA, 2006).

Las evidencias microbiológicas señalaron la necesidad imperiosa de cambiar esta modalidad de colecta. Para minimizar la contaminación de los frutos se recomendó que ésta se realice directamente del árbol o a través del

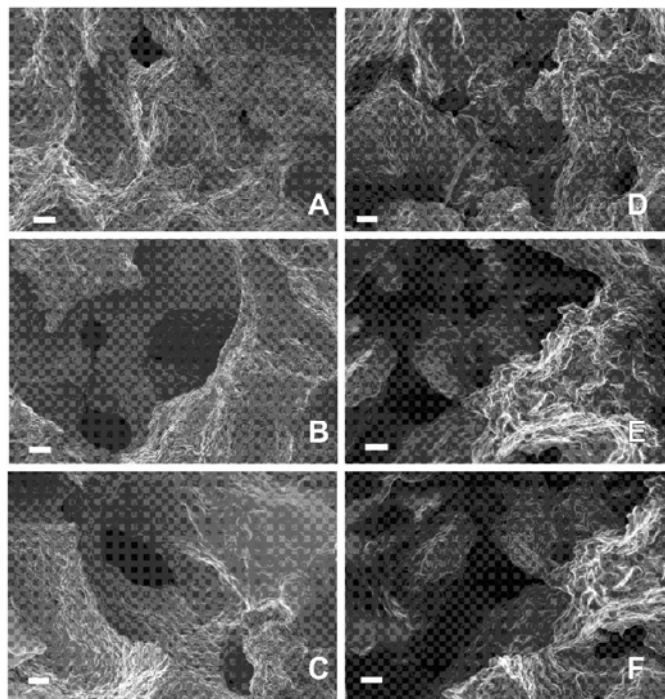


Figura 93. Budín elaborado con la mezcla propuesta, fotomicrografías con FESEM. A-F, ultraestructura y porosidad: A-C, *P. alba* Griseb; D-F, *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart. Escalas 100μm.

vareo de las plantas, para que los frutos caigan sobre una malla ubicada a cierta distancia del suelo ($\approx 1\text{m}$).

El secado de los frutos previo a la molienda, resultó imprescindible para el correcto funcionamiento del molino. La temperatura óptima fue a 60°C , durante 25 minutos, 50 minutos y 2 horas 20 minutos para *P. alba*, *P. chilensis* y *P. flexuosa*, respectivamente. Estas condiciones aseguraron el alcance de una humedad final inferior a 6 %, en el menor tiempo posible y con el menor gasto de energía. Barra de la Rosa *et al.* (2006) y Escobar *et al.* (2009), entre otros, citaron que el secado a esta temperatura, mejora la calidad biológica de la proteína. La aplicación del tratamiento térmico, húmedo o seco, a 60 y 70°C , incrementó la calidad biológica de la proteína del cotiledón (medida como razón proteica neta) de 1,74 a 2,56 y 2,59, respectivamente. Asimismo, el proceso de secado a temperaturas menores a los 70°C , resultó un eficiente método físico, apto para el control de insectos (Mazzufredi y Conles, 2005).

Cuando el secado de los frutos transcurría lentamente, para algunas temperaturas ensayadas, las curvas del secado, mostraron “escalones” que se correlacionaron con la estructura del fruto. La ley de Fick, expresa “en sólidos con niveles de humedad menores al 30 %, el flujo difusivo del agua es inversamente proporcional al espesor” y se aplica para ponderar el efecto del espesor sobre la velocidad de secado. Esta ley explicó satisfactoriamente el comportamiento de la curva de secado en *P. flexuosa*.

En cambio, el tiempo de secado de 25 minutos en *P. alba* y 50 minutos en *P. chilensis*, se correlacionó directamente con el grosor y la estructura anatómica del pericarpo. *P. chilensis*, con un pericarpo más delgado y más compacto, necesitó un tiempo mayor de secado respecto de *P. alba*, que exhibió una estructura más gruesa pero porosa.

Por otra parte, el análisis de la influencia de la temperatura en el secado (ecuación de Arrhenius), indicó una disminución del valor de la energía de activación, E_a , entre los 60 y 70°C , en *P. alba* y en *P. chilensis*. Probablemente, se debió a cambios asociados a la matriz del material estudiado, en particular, por transición o desnaturalización, a partir de 60°C . A temperaturas mayores de 60°C , se iniciaría la desnaturalización proteica en el fruto (Pilosof *et al.*, 2000). Excepcionalmente, en *P. flexuosa* no se observó, para este intervalo de temperaturas, una disminución en E_a . El mesocarpo

grueso y con alto contenido de azúcares, contribuiría para proteger a la matriz proteica evitando su deterioro (Buera *et al.*, 1987).

En base a los ensayos experimentales, resultó aconsejable simplificar el proceso de molienda. El diagrama de flujo inicialmente propuesto, incluía el uso del molino de discos dentados Rilo y dos etapas de molienda en el molino de cuchillas Decalab. Luego de los ensayos se optó por realizar sólo una molienda en el molino de cuchillas Decalab. Las fracciones retenidas en los tamices N° 6 (fracción $> 3360\ \mu\text{m}$), N° 14 (fracción $> 1410\ \mu\text{m}$) y N° 16 (fracción $> 1190\ \mu\text{m}$) se descartaron, dado que produjeron el atascamiento y calentamiento excesivo del molino Rilo y generaron el oscurecimiento de la molienda. Este fenómeno se interpretó como causal del deterioro de la harina, que además del oscurecimiento, evidenció intenso olor a quemado. Estas fracciones descartadas, constituidas principalmente por trozos de endocarpo (fibras lignificadas) y semillas abortadas, no aportarían a la harina, nutrientes esenciales. El endocarpo concentró aproximadamente el 46 – 77 % de fibras. Es interesante mencionar que el descarte de las fracciones optimizó la calidad y digestibilidad de la harina final (Barra de Rosa *et al.*, 2006). La harina o producto final incluyó a las fracciones $> 420\ \mu\text{m}$ retenida por el tamiz N° 40; $> 350\ \mu\text{m}$ retenida por el tamiz N° 45 y $< 350\ \mu\text{m}$.

El estudio anatómico - estructural, de la molienda obtenida a partir de las tres especies analizadas, permitió identificar la presencia de partes del pericarpo y restos de semillas que incluyeron, partes del tegumento seminal, endosperma y abundantes cuerpos proteicos, estos últimos, aislados o agrupados con tamaño variable. La harina de *P. chilensis* presentó los cuerpos proteicos de mayor tamaño. Los análisis MEBA-EDX revelaron que las moliendas de las tres especies ensayadas resultaron ricas en los minerales Mg, P, S, Cl, K y Ca. Excepcionalmente, el fruto de *P. alba* registró además la presencia del elemento Al y el fruto de *P. flexuosa* registró Au y no registró Ca. Los minerales Al y Au no se detectaron en las moliendas.

La harina de *P. alba*, presentó la siguiente composición centesimal: proteínas: 12,5 %; grasas: 0,7 %, fibra dietaria total (FDT): 36,7 %, fibra dietaria insoluble (FDI): 36,5 %; fibra dietaria soluble (FDS): 0,2 %, carbohidratos: 46,5 %, cenizas: 3,6 %. Los registros bibliográficos, reportan: proteínas: 7,4 - 11,7 %, grasas: 1,8 - 4,32 %, fibra: 12,49 – 21,2 %, carbohidratos: 35,0 – 66,69 %,

cenizas: 3,4 – 4,8 %, humedad: 4,0 – 10,0 % (Oduol *et al.*, 1986; Galera *et al.*, 1992; Prokopiuk *et al.*, 2000; INTI, 2006). Respecto de los registros bibliográficos la harina de *P. alba* obtenida a escala experimental, evidenció mayor porcentaje de proteínas y mayor porcentaje de FDT.

A partir de frutos de *P. flexuosa* se obtuvo una harina con: proteínas: 13,1 %, grasas: 1,7 %, FDT: 29,9 %, FDI: 27,7 %, FDS: 2,6 %, carbohidratos: 51,3 %, cenizas: 3,9. Los valores obtenidos concordaron, en general, con los reportados en la bibliografía: proteínas: 12,4 %; grasas: 2,2 %, FDT: 33,0 %, FDI: 31,5 %; FDS: 1,5 %, carbohidratos: 42,8 %, cenizas: 3,6 %; humedad: 7,1 %; otros valores: proteínas, 6,86 %, fibra cruda: 4,35 %, cenizas 6,15 %, extractos no nitrogenados 82,29 % (Chagra Dib *et al.*, 2000). Respecto de la bibliografía, la harina obtenida exhibió mayores porcentajes de proteínas y carbohidratos.

La harina de *P. chilensis* registró: proteínas: 13,2 %, grasas: 2,4 %, FDT: 35,3 %, FDI: 33,7 %, FDS: 1,6 %, carbohidratos: 45,7 %, cenizas: 3,4 %. Silva *et al.* (2000), reportaron: cenizas: 3,37 %, proteínas: 11,48 %, grasas: 3,02 % y FDT: 42,48 %. Respecto de la bibliografía, la harina de *P. chilensis* obtenida resultó con mayor porcentaje de proteínas (13,2 %) y grasas (2,4 %).

Los frutos de *P. chilensis* contienen la mayor cantidad de semillas (20 – 32 semillas por fruto) respecto de *P. alba* (12 – 30 semillas por fruto) y *P. flexuosa* (10 – 18 semillas por fruto). Desde el punto de vista nutricional, las harinas de *P. chilensis* y *P. flexuosa* resultaron alternativas posibles. Las grasas, en relación con las propiedades organolépticas, constituyen un componente importante dado que intensifican el “flavor”. El análisis reveló predominio de ácidos grasos insaturados, importantes para asegurar la estabilidad oxidativa optimizando su conservación (Freyre *et al.*, 2003)

En cuanto a los valores de FDT, en general, resultaron relativamente bajos. En *P. alba* FDT: 36,7 % (FDI: 36,5 % y FDS: 0,2 %); *P. chilensis* exhibió FDT: 35,3 % (FDI: 33,7 % y FDS: 1,6 %,) y *P. flexuosa* FDT 29,9 % (FDI: 27,7 y FDS: 2,6%). Vásquez *et al.* (1985); Prokopiuk *et al.* (2000) e Ibáñez (2003), señalaron en *P. alba* valores del FDT: 26,56 % (FDI: 20,09 % y FDS: 6,47 %). *P. flexuosa* registró el porcentaje más bajo de FDT y el menor de FDI. En general, *P. chilensis* registró valores intermedios de FDT, FDS y FDI.

Las semillas de las leguminosas contienen polifenoles, tripsina, ácido fítico, oligosacáridos (factores antinutricionales) que afectan a la digestibilidad de las proteínas y a la biodisponibilidad de los minerales.

En este estudio, se comprobó que el secado a 60° C resultó ser eficiente para las tres especies ensayadas. Según Vijayakumari *et al.* (1997) y Barra de la Rosa *et al.* (2006) en *P. chilensis* el secado a 60° C - 70° C, disminuye la presencia de los factores antinutricionales, mejora (≈ 80 %) la digestibilidad de las semillas sin afectar su valor nutricional. El valor de tripsina reportado en *Prosopis* es ≈ 400 UI/g, y se encuentra muy por debajo del valor hallado en lentejas (600 UI/g) y garbanzos (12000 UI/g). La disminución en el contenido de tripsina y taninos por efecto de la temperatura de secado, se debió principalmente a sus características termolábiles. La tripsina y los taninos son nutracéuticos a bajas concentraciones y antinutricionales a altas concentraciones. Según los autores, en *P. chilensis* la disminución de ácido fítico (32 %) durante el secado podría deberse a la formación de complejos insolubles entre los fitatos y otros compuestos como fitoproteínas y complejos fitato - proteína – mineral. Además, la reducción altamente significativa en los contenidos de oligosacáridos por efecto de la temperatura de secado, podría deberse a la hidrólisis y formación de disacáridos simples y monosacáridos u otros compuestos.

Como fuera señalado, el rendimiento de las harinas varía según los métodos de molienda utilizados. Mediante trilla manual, Consiansi *et al.* (2005), obtuvieron para *P. flexuosa*, 25 – 40 % del peso en harina de pericarpo (libre de semillas y endocarpo), 7 – 14 % de semillas y 53 – 61 % endocarpo. Las proporciones de semillas se reducen a 4 – 5 % si la trilla es mecánica por la resistencia del fruto. En *P. alba*, con trilla mecánica se logró obtener 40 – 50 % de harina, 13 – 18 % de semillas y 37 – 42 % de endocarpo. En este trabajo, considerando únicamente la harina de baja granulometría (>420 µm - < 350 µm), los valores de rendimiento obtenidos, resultaron superiores para las tres especies ensayadas: *P. alba*: 74,11 % del peso en harina, *P. chilensis*: 79,76 % y *P. flexuosa*: 65,26 %. Así, los valores de rendimiento de harina de baja granulometría con respecto al total de la molienda fueron: 76,80 % en *P. alba*, 81,33 % en *P. chilensis*, y 69,99 % en *P. flexuosa*.

Con respecto al análisis de granulometría, la harina de *P. chilensis* resultó excelente. Esta especie registró una fracción insoluble en agua equivalente a 44,3 – 67,24 μm ; mayor rendimiento (81,33 %) para las fracciones de harina > 420 μm - < 350 μm . Con buen comportamiento durante el proceso de secado y molienda (50 min para alcanzar una humedad < 5 – 6 %), CAG intermedia, CAA casi dos veces mayor que su masa. El color resultó intermedio entre las harinas de *P. alba* y *P. flexuosa*.

P. alba proporcionó una harina con muy fina granulometría en todos los componentes solubles e insolubles en agua. En las otras dos especies, se lograron harinas donde las partículas de mayor granulometría correspondieron exclusivamente a los componentes solubles. La harina de *P. chilensis* presentó una granulometría con valor medio similar a *P. alba* (< 55 μm).

En cuanto a la granulometría, el Código Alimentario señala que de menor a mayor tamaño de partículas, los grado I, grado II y grado III, respectivamente, son empleados para la elaboración de diferentes productos.

Además, la utilización de dos solventes, agua y etanol, para la determinación del tamaño de partícula (DPT) de las moliendas de menor granulometría (> 420 μm - < 350 μm), permitió visualizar el comportamiento de las distintas fracciones según su solubilidad y abarcar un amplio intervalo de tamaños (hasta 1000 μm). Se sabe que la homogeneidad (SPAN), asociada a una mejor calidad, asegura un mayor éxito en la elaboración de los productos.

Si bien, la harina elaborada a partir de frutos de *P. alba* resultó más homogénea o uniforme (< SPAN) y con granulometría más pequeña que la correspondiente a *P. chilensis* y *P. flexuosa*, es interesante destacar que el rendimiento fue mayor en *P. chilensis*, seguido por *P. alba* y *P. flexuosa*.

La harina de *P. flexuosa* presentó un rango muy amplio de tamaño de partícula con un valor medio que abarcó desde los 52 μm hasta los mayores valores registrados entre las especies analizadas, cercanos a los 1000 μm . Si bien, para reducir su granulometría, repetir el tamizado aseguraría optimizar la calidad, esto implicaría bajar aún más el rendimiento, que como vimos resultó menor al calculado para las dos especies restantes. Si se aumentara el tiempo de molienda, la velocidad de rotación de las cuchillas generaría un incremento en la temperatura que impactaría negativamente en la harina.

La capacidad de absorción de agua (CAA), propiedad funcional crítica de las proteínas, resulta fundamental en alimentos viscosos (salsas, sopas, masas y productos horneados), que requieren buena interacción proteína-agua. Esta propiedad puede ser considerada un índice hidrofílico de la harina (Granito, 2004; Oladele *et al.*, 2007; Eltayeb *et al.*, 2011).

El valor de CAA obtenido para harinas en base seca fue: 290 % en *P. alba*, 180 % en *P. chilensis* y 123 % en *P. flexuosa*. Los valores resultaron similares a los de harinas elaboradas a partir de otras leguminosas: *Vigna subterranea* (281.35 %), *Glicine max* (130 %), *Pachyrhizus erosus* (118 a 179 %), *Phaseolus lunatus* (130 a 140 %), *Phaseolus vulgaris* (167 %) y mayores a la de *Helianthus annuus* (107,1 %) (Lin *et al.*, 1974; Sathe *et al.*, 1981; Eltayeb *et al.*, 2011).

Una alta CAA de la harina puede atribuirse a la presencia de residuos de aminoácidos más polares con mayor afinidad por el agua (Eltayeb *et al.*, 2011). Además, el efecto térmico incrementa la capacidad de absorción de agua.

Sangronis *et al.* (2004), indican que la CAA de una muestra no es necesariamente una función de su contenido proteico. La presencia de componentes no proteicos puede influir sobre la CAA. Tal capacidad depende de las interacciones proteína-agua y agua-agua, y acciones físicas de capilaridad. Una mayor CAA se puede atribuir a la retención física de agua por capilaridad a la nueva estructura formada por agregación de las proteínas. Dada la complejidad de la matriz de los alimentos, la naturaleza hidrofílica de los carbohidratos, la gelatinización del almidón o de las gomas, cuando están presentes, y el hinchamiento de la fibra dietética pueden contribuir, entre otros, al incremento de la CAA del fruto seco (Granito, 2004).

La capacidad de absorción de grasa (CAG) es considerada como un índice hidrofóbico de la harina (Kaptso *et al.*, 2007). Según Oladele *et al.* (2007) y Eltayeb *et al.* (2011), diferencias en la CAG podrían deberse a la mayor o menor presencia de cadenas laterales no polares o hidrofóbicas ligadas a los lípidos. En la presente investigación, los mayores valores de CAG se registraron para la harina de *P. alba*. *P. chilensis* registró un valor de CAG superior al de *P. flexuosa*. Así, *P. chilensis* exhibió un valor intermedio de CAG entre *P. alba* y *P. flexuosa*.

La CAG se relaciona con la retención del “flavor”, el mejoramiento de la palatabilidad y el aumento de la vida útil, especialmente, en productos de panadería donde la absorción de grasa es deseada (Sathe, 2002; Granito, 2004).

En cuanto al color, Prokopiuk *et al.* (2000) analizaron la pulpas de *P. alba* y *P. pallida*. La interpretación de las coordenadas de color (L^* , a^* , b^*) indicó que si bien ambas pulpas registraban un alto valor de luminosidad (L^*) *P. alba* resultó más clara. La coordenada a^* mostró pequeñas magnitudes de rojo, con un valor tres veces menor para *P. alba*. La coordenada b^* un poco inferior para *P. alba* señaló el color amarillo de las pulpas. En general, la pérdida de L^* puede asociarse a condiciones más severas de secado (Elbert *et al.*, 2001). En el caso de las harinas de algarrobo estudiadas, a pesar del menor tiempo de secado empleado, las especies *P. alba* ($L^* = 53,37$) y *P. chilensis* ($L^* = 64,67$) presentaron valores de L^* inferiores a *P. flexuosa* ($L^* = 71,37$). En el caso de las especies analizadas, L^* no siguió un patrón usual de dependencia con la severidad del secado.

Al analizar ΔE de color, la mayor diferencia resultó entre *P. alba* y *P. chilensis* ($\Delta E = 3,46 \pm 0,27$). Entre *P. alba* y *P. flexuosa* fue $\Delta E = 3,05 \pm 0,34$ y entre *P. chilensis* y *P. flexuosa* fue la más baja registrada, $\Delta E = 1,62 \pm 0,20$. Estos resultados no coincidieron con los valores del espacio cromático $x - y$, que diferenció claramente, respecto de las dos restantes, a la harina de *P. flexuosa*. El espacio cromático $x - y$, no contempla la luminosidad de las harinas para ubicar los puntos representativos de cada una de ellas. Dado que las harinas estudiadas mostraron valores diferentes de luminosidad, el análisis en base al espacio cromático proporcionó una falsa ubicación de las mismas al considerar a todas en el mismo plano.

Las tres especies estudiadas presentaron en el embrión, abundantes cuerpos proteicos de tamaño variable. Las observaciones a MO de los controles evidenciaron: en *P. alba* cuerpos proteicos redondos a oblongos, de tamaño $0,9 - 5,2 \mu\text{m}$; en *P. chilensis* similares a *P. alba*, pero con forma redondeada y tamaño $0,6 - 7,5 \mu\text{m}$; en *P. flexuosa* se vieron con forma variable, poligonales, de tamaño $1,36 - 3,42 \mu\text{m}$.

Cuando los frutos se secaron a 60°C se generaron, respecto de los controles, alteraciones que afectaron la forma y tamaño de los cuerpos

proteicos. En *P. alba*, se vieron poligonales y de menor tamaño $0,7 - 4,3 \mu\text{m}$; en *P. chilensis* y *P. flexuosa* registraron forma poligonal y tamaño mayor $1,5 - 9,6 \mu\text{m}$ y $1,36 - 4,79 \mu\text{m}$, respectivamente.

Luego del secado a 60°C y molienda, los cuerpos proteicos de *P. alba* presentaron forma aproximadamente esférica y tamaño reducido $0,7 - 3 \mu\text{m}$; en *P. chilensis* exhibieron forma poligonal y tamaño superior $1,6 - 5,8 \mu\text{m}$. En *P. flexuosa* los cuerpos proteicos expusieron contorno poligonal y tamaño variable $0,86 - 7,75 \mu\text{m}$.

Respecto de *P. alba*, *P. chilensis* exhibió cuerpos proteicos de mayor tamaño. Además, esta especie con un mayor número de semillas por fruto podría asegurar la calidad nutricional de la harina resultante.

El análisis MEBA – EDX, reportó que los elementos minerales Mg, P, S, Cl, K y Ca, detectados en el control se mantienen en las harinas de las tres especies. Asimismo, el elemento Al, presente en el control de *P. alba*, y el elemento Au, detectado en el control de *P. flexuosa*, no se identificaron en las respectivas harinas.

En cuanto a la harina de *P. chilensis*, el tratamiento ensayado (secado a 60°C y molienda), alteró, a nivel de los cuerpos proteicos, el dominio de la proteína. Se documentaron las principales alteraciones estructurales (micro, ultra y nano) de la matriz proteica en los cuerpos proteicos del embrión. Al MO, cortes transversales de cotiledón del embrión, obtenidos a partir de frutos secados a 60°C , exhibieron cuerpos proteicos próximos entre sí, con contorno irregular a ondulado y separados por una reducida zona de lípidos. Las secciones de trozos de cotiledón presentes en la fracción de molienda $< 350 \mu\text{m}$ exhibieron cuerpos proteicos poligonales, visiblemente delimitados, compactados y con la zona de lípidos muy reducida entre ellos. Respecto al control, la membrana del proteinoplasto, presentó los márgenes con mayor contraste electrónico y una interfase translúcida distendida. El espesor de la membrana incrementó aproximadamente desde $68 - 136 \text{ nm}$. a $97,4 - 304,3 \text{ nm}$ (molienda).

Al microscopio electrónico de transmisión (MET), la matriz proteica del control se vio electrónicamente poco densa, abundante, profusa y con microporos electrónicamente más densos, algunos pequeños, de forma irregular y otros, alargados y de tamaño variable. Luego del secado a 60°C , el

polipéptido modificó su aspecto ultraestructural, constituyó un dominio más profuso, se tornó más evidente, aparentemente dilatado y con los microporos reducidos. En la molienda, la proteína se observó como un dominio, profusamente ramificado, contraído, conformando una red conspicua ramificada sin patrón de ramificación definido, delimitando microporos y microfracturas de forma y tamaño variables

La microscopía de fuerza atómica (MFA) permitió, para *P. chilensis*, obtener información inédita y documentar el aspecto nanoestructural de la proteína de los cuerpos proteicos en el embrión. El proceso modificó la nanoestructura de la proteína. Hecho que si bien podría afectar a las propiedades funcionales de la proteína no alteraría el valor nutricional.

Las observaciones con MFA realizados en el control, mostraron cuerpos proteicos con una matriz proteica densa y con escasos nanoporos. El polipéptido exhibió agregados ($\approx 210,5 - 273,7$ nm de ancho) con un recorrido ondulante y nanoporos irregulares, reducidos ($\approx 105 - 231$ nm de ancho). Luego de la molienda las células de parénquima reservante del cotiledón exhibieron cuerpos proteicos apretadamente dispuestos, de tamaño similar a los del control y con la matriz proteica, conspicuamente fracturada. El polipéptido ramificado, conformó un patrón de disposición paralelo y alineado con agregados de mayor tamaño que el control de $312 - 437$ nm de ancho, separados entre sí por nanofracturas extendidas ($\approx 25 - 100$ nm de ancho).

No se efectuó el análisis de la composición aminoacídica dado que, según la bibliografía, los aminoácidos que componen la proteína se mantienen a pesar de los tratamientos: ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, cisteína, valina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, lisina, histidina y arginina (≈ 60 g/100 g de materia original) (Astudillo *et al.*, 2000; Buchanan *et al.*, 2006).

Según Galera *et al.* (2004) los aminoácidos limitantes en la proteína de *P. chilensis* son isoleucina, treonina y metionina/cisteína. La mezcla de cereales y leguminosas, permite mejorar el balance aminoacídico, ya que las leguminosas tienen más lisina y los cereales son más ricos en aminoácidos azufrados. La harina de semillas de *P. chilensis* contiene en los cotiledones 2 - 3 veces mayor contenido de lisina que el trigo. La incorporación de la harina de cotiledón (hasta un 20%) en productos alimenticios estudiados, aumentaría el

aporte de lisina disponible, su contenido de proteínas y fibra dietética, mejorando la relación fibra soluble/insoluble, sin afectar sus características físicas ni la aceptabilidad sensorial. Además, la contribución proteica a partir de los frutos de *P. chilensis* podría ser mayor que la aportada por el salvado de trigo, la cebada, el fruto de avena, o de maíz, (Astudillo *et al.*, 2000).

Finalmente, el estudio estructural (micro, ultra y nano), el análisis de las propiedades funcionales, el color y el alto rendimiento del proceso de obtención de harina a partir de frutos de *P. chilensis*, constituiría un aval para lograr la incorporación de esta especie al Código Alimentario Argentino. Además, sostendría la propuesta de una mezcla seca de harinas libre de gluten, rica en proteínas y de simple formulación (18 % harina de arroz, 18 % fécula de mandioca, 23 % almidón de maíz, 38 % harina de *P. chilensis* y 3 % bicarbonato de sodio).

Considerar los frutos de *P. chilensis* como un recurso nativo apto para obtener harinas de alto calidad y valor nutricional, enfatizaría la necesidad de proteger a este recurso natural. Actualizar el censo de distribución de la especie para obtener mapas de distribución de *P. chilensis* a nivel de la provincia fitogeográfica del Monte (mediante la combinación de sensores remotos, corroboración a campo y clasificación taxonómica) (Verga *et al.*, INTA), definir el estado fitosanitario de los ejemplares existentes, generar viveros forestales para el eventual programa de reforestación de áreas con baja presencia de la especie, analizar el potencial de fructificación de los ejemplares de *P. chilensis* existentes y asegurar la cosecha de una cantidad óptima de frutos, son, entre otras actividades, iniciativas importantes a la hora de valorizar este recurso nativo, como un productor de frutos aptos para molienda.

La información que aporta el presente estudio se constituiría en aval para tramitar la incorporación de la especie en el Código Alimentario Argentino, un hito a cumplir. Con ello se sumaría a *P. alba* y *P. nigra*, las únicas dos especies incluidas, hasta el presente.

Desde el punto de vista de la ciencia básica, el estudio aporta información inédita sobre aspectos estructurales (micro, ultra y nano) de las especies analizadas y sobre las propiedades funcionales y de color de las

harinas obtenidas. Desde el punto de vista aplicado, propone una metodología innovativa de molienda y secado de frutos.

Indirectamente, la propuesta de la generación de un producto de calidad y alto valor nutricional obtenido a partir de un nuevo recurso nativo impulsaría el desarrollo de economías regionales. El aprovechamiento de este producto forestal no maderero sería un desafío para los habitantes de las provincias donde crece esta especie (Catamarca, O de Córdoba, La Rioja, Mendoza, Salta, San Juan, San Luis y Tucumán), sin obstaculizar la actividad de las comunidades de Chaco, Formosa y Santiago del Estero, que procesan *P. alba* y *P. nigra*.

6. Conclusiones

- Como contribución general al conocimiento, el estudio de la caracterización estructural y de las propiedades funcionales de la harina de los frutos de “algarrobo”, aporta datos inéditos que podrán ser utilizados para optimizar métodos ya existentes o desarrollar nuevas tecnologías orientadas a la producción de una harina de alto valor proteico.
- Las relaciones entre caracteres estructurales (micro, ultra y nano) y la caracterización de la harina de “algarrobo”, revelan información original que permitirá comprender, entre otros, el comportamiento de los frutos cuando sean sometidos a técnicas de procesamiento.
- Los cambios ultraestructurales generados por los tratamientos de secado y molienda, alteraron la membrana de los cuerpos proteicos. El cambio afectaría las propiedades de humectación y retención de agua.
- La microscopía de fuerza atómica permitió documentar por primera vez el ordenamiento nanoestructural de la proteína en la matriz de los cuerpos proteicos de las células del embrión.
- En base al estudio realizado, para alcanzar una humedad final entre 5 – 6 %, la temperatura recomendada fue 60° C para las tres especies estudiadas. El tiempo de secado más conveniente resultó en *P. alba*, 25 minutos; en *P. chilensis*, 50 minutos y en *P. flexuosa*, 2 horas 20 minutos.
- Un incremento de la temperatura de secado, redundaría en una reducción del tiempo para alcanzar la humedad final requerida, pero ocasionaría un deterioro del producto. Las condiciones de secado empleadas evitaron los efectos de oscurecimiento de las harinas.
- El estudio de la granulometría permitió identificar y definir como óptimas a las fracciones de harina gruesa, media y fina. El índice de homogeneidad de las harinas, en orden decreciente, fue *P. alba* > *P. chilensis* > *P. flexuosa*.
- Las harinas de las tres especies estudiadas presentaron índices funcionales, capacidad de absorción de agua (CAA) y capacidad de

absorción de grasa (CAG), dentro de los rangos requeridos en panificación.

- Los elevados valores de solubilidad observados en las harinas de las tres especies, revelaron aptitud para ser utilizadas en el desarrollo de alimentos líquidos y/o dulces como “chocolatadas” y bebidas saborizadas.
- A partir del método de molienda propuesto, se obtuvieron rendimientos totales de molienda muy satisfactorios para las tres especies estudiadas, siendo el orden decreciente, *P. chilensis* > *P. alba* > *P. flexuosa*.
- El rendimiento de la fracción fina (< 350 µm) fue en orden decreciente: *P. chilensis* > *P. flexuosa* > *P. alba*.
- Las diferencias de color observadas entre las tres harinas constituyen un atributo valioso que se preservó a lo largo del procesamiento del producto. Esta característica propia y distintiva está asociada a las preferencias del consumidor a la hora de elegir.
- *P. chilensis* registra un tiempo intermedio de secado de los frutos; muy buena respuesta para la molienda; mayor rendimiento de harina, en especial de la fracción < 350 µm; superior presencia de cuerpos proteicos; CAA y CAG duplican su volumen; con un tamaño de partículas insolubles en agua y color similar a *P. alba*.
- *P. chilensis* presenta una mayor cantidad de semillas por fruto. En cuanto a su área de distribución, esta especie no competiría con la elaboración de harina de *P. alba*.
- Indirectamente, la propuesta de la generación de un producto de calidad y alto valor nutricional obtenido a partir de un nuevo recurso nativo impulsaría el desarrollo de economías regionales. A partir de *P. chilensis* se realizó con éxito el desarrollo y la evaluación de una mezcla seca de harinas libre de gluten, rica en proteínas y de simple formulación.
- Finalmente, el estudio estructural (micro, ultra y nano), el análisis de las propiedades funcionales, el color y el alto rendimiento del proceso de obtención de harina a partir de frutos de *P. chilensis*, constituirían el aval para lograr la incorporación de esta especie al Código Alimentario Argentino.

7. Bibliografía

- AACC. 1989. American Association of Cereal Chemist. Approved methods. Saint Paul, Minn. EEUU. 1211 : 21.
- Abbey, B.W. and Ibeh, G.O. 1988. Functional Properties of Raw and Heat Processed Cowpea (*Vigna unguiculata*, Walp) Flour. *Journal of Food Science*, 53 (6):1775 –
- Abu-Ghannam, N., and McKenna, B. (1997). Hydration kinetics of red kidney beans. *J. of Food Science*, 62(3): 520-523.
- Aletor, O., Agbede, J.O., Adeyeye, S.A and Aletor V.A. 2007. Chemical and Physio-Chemical Characterization of the Flours and Oils from whole and Rejected Cashew Nuts Cultivated in Southwest Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6 (1): 89-93.
- Alianelli, L. M., Tolaba, M. P., Suarez, C. 2009. Aplicación de la ecuación de Peleg para la simulación de la cinética de hidratación de arroz pulido. Proceedings del XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Concordia, Entre Rios, Argentina
- Allen, O. N. and E.K. Allen. 1981. The Leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation. The University of Wisconsin Press, Madison.
- APCD. Asociación para la Cultura y el Desarrollo. Las Lomitas. Formosa. Argentina.
- Arambarri, A.M., Novoa, M.C., Bayón, N.D., Hernández, M.P., Colares, M.N. y Monti, C. 2011. Ecoanatomía foliar de árboles y arbustos de los distritos Chaqueños Occidental y Serrano (Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 46 (3-4): 251 – 270.
- Alvarez, J. A. & Villagra, P.E. 2009. *Prosopis flexuosa* DC. (Fabaceae, Mimosoideae). *Kurtziana*, 35 (1): 49-63.
- Anderson, D. M. W. and Farquhar, J. G. K. 1982. Gum exudates from the genus *Prosopis*. *International Tree Corps Jour.*, 2: 15 – 24.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association Official Analytic Chemist. 14 ed. Washington, DC, EE.UU.
2000. Official Methods of Analysis of the Association Official Analytic Chemist. 17 ed. Washington, DC, EE.UU.

- Ashton, Floyd M. 1976. Mobilization of Storage Protein of Seeds. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 27: 95 – 117.
- Ascheri, J. L. R., Figueiredo, A.A., Carvalho, C.W.P., Oliveira, A., Miguez, M. Ascheri, D.P.R., Azevedo, T. L. 2005. 2nd. Mercosur Congress on Chemical Engineering. 4th Mercosur congress on Process Systems Engineering. ENPROMER. Costa Verde. Brasil.
- Astudillo, L., G. Schmeda-Hirschmann, J. P. Herrera and M. Cortés. 2000. Proximate composition and biological activity of Chilean *Prosopis* species. *J. Sci. Food. Agric.* 80: 567 – 573.
- Baker, A. A., Miles, M. J. & Helbert, W. 2000. Internal structure of the starch granule revealed by AFM. *Carbohydr. Res.*, 330: 249 – 256.
- Bakker, J., Bridle, P., Timberlake, C. F. 1986. Tristimulus measurements (CIELAB 76) of port wine colour. *Vitis*, 25: 67 – 78.
- Barac M., S. Cabrilo, M. Pesic, S. Stanojevic, S. Zilic, O. Macej and N. Ristic. 2010. Profile and Functional Properties of Seed Proteins from Six Pea (*Pisum sativum*) Genotypes. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 4973 – 4988.
- Barra de la Rosa, A.P, Frías-Hernández, J.T., Olalde, V. and González Castañeda, J. 2006. Processing, Nutritional Evaluation, and Utilization of Whole Mesquite Flour (*Prosopis laevigata*). *Journal of Food Science*, 71. Nr. 4. S315-S320.
- Benson, L. 1941. The mesquites and screw beans of the United States. *Amer. J. Bot.*, 28: 748-754.
- Beuchat, L. 1977. Functional and electrophoretic characteristics of succynalated peanut flour proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 25: 258-263.
- Bigne, F., Ferrero, C. 2011. Panes precocidos libres de gluten: efecto de la aplicación de ciclos de congelación - descongelación. XVIII Congreso CYTAL – AATA. Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 19 - 21 Octubre 2011. Universidad Católica Argentina (UCA).
- Boye, J. I., Ma, C.Y., and Harwalkar, V.R. 1997. Thermal Denaturation and Coagulation of Proteins. En: Food Proteins and their applications. Ed. Srinivasan Damodaran - Alain Paraf. Dekker, Inc, NY,USA.
- Braun Wilke, R.H. 1988. Revaloración de *Prosopis ferox* Grisebach. Universidad Nacional de Jujuy.
- Bravo, L, Grados, N and Saura-Calixto, F. 1994. Composition and Potential Uses of Mesquite Pods (*Prosopis pallida* L): Comparison with Carob Pods (*Ceratonia siliqua* L). *J Sci Food Agric*, 65: 303 – 306.
- Brizuela, M. M., A. D. Burghardt, D. Tanoni y R. A. Palacios. 2000. Estudio de la variación morfológica en tres procedencias de *Prosopis flexuosa* y su manifestación en cultivo bajo condiciones uniformes. *Multiequina*, 9: 07 – 15.
- Bruno, S. 1992 "Avances en el conocimiento de la bioecología de cuatro especies del Género *Prosopis* de interés forrajero del NO de la Provincia de Córdoba", 68-76 XIV Reunión del grupo Técnico Regional del Cono Sur en mejoramiento y Utilización de los Recursos forrajeros del Area tropical y Subtropical. Grupo Chaco. Santiago del Estero. Argentina.
- Buchanan, B., Gruissem, W. & Jones, R. L. 2002. Storage proteins, globulins. En: Biochemistry and Molecular Biology of Plants, Chap. 10. Ed. Wiley.
- Buera, M., Chirife, J., Resnik, S., Wetzler, G. 1987. Nonenzymatic browning in liquid model systems of high water activity: kinetics of color changes due to Maillard reaction between different single sugars and glycine and compararison with caramelization browning. *Journal of Food Science*, 52(4): 1063-1067.
- Buera, M.; Hough, G.; Martinez, E.; Resnik, S. 1990. Colorimetric, spectrophotometric and sensory color measurements of a dairy product: dulce de leche. *Anales de la Asociación Química Argentina*, 78: 291-295.
- Buera, M. P., J. Chirife, S. Resnik and G. Wetzler. 1987. Nonenzymatic Browning in Liquid Model Systems of High Water Activity: Kinetics of Color Changes due to Maillard's Reaction Between Different Single Sugars and Glycine and Comparison with Caramelization Browning *Journal of Food Science*, 52 (4): 1063 – 1067.
- Buera, M., Chirife, J., Resnik, S. 1990. Nonenzymatic Nonoxidative Browning in Hydrolyzed Shelfstable Concentrated Cheese Whey. *Journal of Food Science*, 55 (3): 697 – 700.
- Burkart, A., 1937. Estudios morfológicos y etológicos en el género *Prosopis*. *Darwiniana*, 3 (1): 27 – 47.
1940. Materiales para una monografía del género *Prosopis* (Leguminosae). *Darwiniana*, 4 (1): 57 – 128.

1943. Las Leguminosas argentinas silvestres y cultivadas. Ed. ACME. 1º Ed. 540 p. Buenos Aires, Argentina

1949. Leguminosas nuevas o críticas III. *Darwiniana*, 9(1): 63 – 96.

1952. Las Leguminosas argentinas silvestres y cultivadas. Ed. ACME. 2º Ed. Buenos Aires, Argentina.

1976. A Monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosidae). *Journal Arnold Arboretum*, 57 (3), 219 – 249.

1976. A Monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae sufam. Mimosidae). *Journal Arnold Arboretum*, 57 /4), 450 – 525.

Burghardt, A.D. 1995. La identidad de cuatro especies de *Prosopis* L. expresada a través de sus patrones electroforéticos. *Mendeliana*, 12 (1): 38-50.

Burghardt, A.D. 2000. Estudio Electroforético de Proteínas de Semillas en *Prosopis* (Leguminosae) I: Sección Algarobia. *Bol. Soc. Argent. Bot.*, 35 (1 - 2): 137-147.

Cabrera, A. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Bol. Soc. Arg. Bot.*, XIV (1 - 2).

Cabrera, A. Willink, A. 1980. Biogeografía de América Latina. Serie de biología, Monografía N° 13. OEA 1 - 122.

Camino, N. A., Pilosof, A. M. R. 2010. Hydroxypropylmethylcellulose at the oil/water interface. Part II, *Food Hydrocolloids*, doi:10.1016/j.foodhyd.2010.09.026

Carballo, M. E., Coirini, R., Deza, C. y Balzarini, M. Suplementación con vainas de algarrobo blanco para mejorar la producción caprina de pequeños productores del norte de Córdoba.

Castillo de Meier, G., V. Vega y O. A. Bovo. 1999. Obtención de plantas a partir del cultivo *in vitro* de ápices y microestacas de *Prosopis alba*, *P. nigra* y *P. hassleri*. *Oyton*, Fundación Rómulo Raggio, 65: 179 – 184.

Chagra Dib, E. P., Valdivia, C. L., Vera, T. A., Leguiza, H. D. 2000. Efecto de la suplementación invernal con frutos de algarrobo y heno de alfalfa sobre la producción de leche de cabras criollas y el crecimiento de los cabritos lechales. INTA. Centro Regional Cuyo. Estación Experimental Agropecuaria. Junín.

Charlton, A. J., N. J. Baxter, M. Lokman Khan, A. J.G. Moir, E. Haslam, A. P. Davies, and M. P. Williamson. 2002. Polyphenol/Peptide binding and Precipitation. *J. Agric. Food Chem*, 50, 1593 – 1601.

CIE. 1986: CIE Publications Nos. 15.2, Colorimetry. Ed. 2; S001, colorimetric Illuminants; S002, Colorimetric Observers. Central Bureau of the CIE, Vienna.

Código Alimentario Argentino. Capítulo IX. Alimentos farináceos – Cereales, harinas y derivados. NMX-F-007-1960 Harina de Trigo.

CORD. 1992. (Centre for Overseas Research and Development). *Prosopis* species. Aspects of their Value, Research and Development. Proceedings of the *Prosopis* Symposium. University of Durham UK. Ed: Roderic W. Dutton.

CORFO. 1985. Valoración Nutricional de Tamarugo y Algarrobo y Perfiles Metabólicos de Ovinos y Caprinos en la Pampa del Tamarugal en Estado Actual del Conocimiento Sobre *Prosopis tamarugo*. Habit, M. A. Ed. FAO. Dirección de Producción y Protección Vegetal. Roma (Italia). 75 – 88.

Cosiansi, J. F., E. Milanesi, D. P. Da Riva, V. E. Álvarez, L. M. Rindertsma y S. Hayipanteli. 2005. Procesamiento de frutos. Obtención de semillas y subproductos. En: Conservación de Recursos Forestales Nativos en Argentina. El Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*. Eds.: Verzino, G. E. y M. J. Joseau. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Cruz, G. 1992. Algarrobo, guarango, *Prosopis*. 2º Seminario Nacional del Algarrobo. Chulucanas, Piura.

Dalmasso, A.D., Anconetani, J. 1993. Productividad de frutos de *Prosopis flexuosa* (Leguminosae), algarrobo dulce, en Bermejo, San Juan. *Multiequina*, 2: 173 – 181,

D'ambrogio de Argueso, a. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Ed. Hemisferio Sur S.A.

Damodaran, S. 1997. Food Proteins: An Overview. Food Proteins and their applications. 1 – 24. Ed. Srinivasan Damodaran - Alain Paraf. Dekker, Inc, NY, USA.

Demario, P; Karlin, U. O., Medina, M. 2002. Árboles Nativos del Centro de Argentina. Los Algarrobos. Literature of Latin America (L.O.L.A.).

de Ataíde Silva, M. Taxonomy and Distribution of the Genus *Prosopis* L. *Botany*, (3).

de Hamburgo Alves, J. L., Arcoverde de Melo M. S., Alves, G. D. Internal Structure of Plant, Fruit, Seed, and Pollen Morphology of *Prosopis juliflora* (Sw) DC.

Departamento de Ciencias Geológicas. www.gl.fcen.uba.ar/servicios/sedi.htm. José Ignacio Cuitiño (operador).

Díaz Cellis, A., 1995. Antecedentes históricos. Los Algarrobos. CONCYTEC. III: 21 – 27. Perú.

Elbert, G., M. P. Tolaba and C. Suárez. 2001. Effect of drying conditions on head rice yield and browning index of parboiled rice. *Journal of Food Engineering* (47), 37 - 41.

Eltayeb, A. Rahman, S. M., Ali O. Ali, Azza A. Abou-Arab and Ferial M. Abu-Salem. 2011. Chemical composition and functional properties of flour and protein isolate extracted from Bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *African Journal of Food Science*, 5(2), 82 – 90.

Engel, A., Lyubchenko, Y and Müller, D. 1999. Atomic force microscopy: a powerful tool to observe biomolecules at work. *Cell Biology*, 9: 77 – 80.

Esau, K. 1977. Anatomía de las Plantas con Semilla. Ed. Hemisferio Sur ISBN0-471-24520-8.

Escobar, B., Estévez A., A.M., Fuentes G., C., Venegas, F. D. 2009. Uso de harina de cotiledón de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) como fuente de proteína y fibra dietética en la elaboración de galletas y hojuelas fritas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, 59 (2).

Espinoza, J., 1987. Tecnología Apropriada para la Producción de Gomas a Partir de las Semillas de Algarroba Peruana (*Prosopis sp.*). En: Actas del II Simposium International sobre la Garrofa. Generalitat Valenciana, Valencia, España Fito, P., Mulet, A. Eds., 429 - 438.

Estévez, A.M; Escobar, B., Ugarte A. 2000. Utilización de cotiledones de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz) en la elaboración de barras de cereales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*.

FAO/WHO, 1973. "Energy and Protein requirements" Ad Hoc Expert Committee, World Health Organization, Tech. Report. Series 522, Rome, Italy.

FAO. 1980. Genetic resources of tree species in arid and semi-arid areas. FAO/IBPGR, 188 p.

2005. Food and Agriculture Organization. <http://apps.fao.org/>

FAO. Estado actual del conocimiento de *Prosopis tamarugo*. Moderador: Christel Palmberg. Panel 3. Botánica. Carolina Briner. Caracterización fenotípica de los biotipos de Tamarugo en la Pampa del Tamarugal. Universidad de Chile.

FAO. Estado actual del conocimiento de *Prosopis tamarugo*. Moderador: Christel Palmberg. Panel 3. Botánica. Sergio Trobok V. Morfología de frutos y semillas de *Prosopis* (Fabaceae – Mimosoideae) chilenos. Departamento de Producción Agrícola Universidad de Chile.

Fernández de Oviedo y Valdés, G. 1535. Historia general y natural de las Indias: Parte1. www.ems.kcl.ac.uk

Folliot, F. & J. Thames, 1983. Manual sobre la taxonomía de *Prosopis*, en México, Perú y Chile. FAO: 1 - 35.

Francis, F. J. 1969. Pigment content and color in fruits and vegetables. *Food technology*, 23 : 32.

Frías-Hernández, J. T., Aguilera G., L. I. y Olalde Portugal, V. 1994. Productividad de una comunidad dominada por mezquite (*Prosopis laevigata*) bajo el enfoque de agricultura sostenible. Depto. de Biotecnología y Bioquímica del CINVESTAV-IPN, Unidad Irapuato, México

Freyre, M., Astrada, E., Blasco, C., Baigorria, C., Rozycki, V., Bernardi, C. 2003. Valores nutricionales de frutos de vinal (*Prosopis ruscifolia*): consumo humano y animal. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 4 (1) 41 - 46.

Galera, F., Bruno, S. 1995. Avances en el Conocimiento de la Bioecología de las Especies del género *Prosopis* de interés forrajero del N.O de la Provincia de Córdoba. *Memorias*, XIV.R.G.C: FAO.

Galera, M. F., Trevisson, M., Bruno, S. A. 1992. "*Prosopis* in Argentina: Initial results on Cultivation in Greenhouses and Orchards, and Pod Quality for Food or Feed of Native *Prosopis* Species of Córdoba Province". *Prosopis*

Species Aspects of their Value, Research and Development-CORD: 145-156)

Galera, M.F. *Prosopis alba* var *panta* Grisebach. Grassland Species. CIAT/FAO. www.fao.org.

Galindo-Almanza, S., García-Moya, E., L.-Wendt, T. & González Cossio, F. V. 1992. Potencial de hibridación natural en el mezquite (*Prosopis laevigata* y *P. glandulosa* var. *torreyana*, Leguminosae) de la altiplanicie de San Luis Potosí. *Acta Bot. Mexicana*, 20: 101- 117.

Galindo-Almanza, S., García-Moya, E., L.-Wendt, T. 2000. Formas de Aprovechamiento, Hibridación Natural y Sistema Reproductivo en las Especies de Mezquite (*Prosopis* L., Leguminosae) de la Altiplanicie de San Luis Potosí, México. El Mezquite árbol de usos múltiples. Estado actual del conocimiento en México. Ed. Frías Hernández, J.T., Olalde Portugal, V., Vernon Carter, J. Universidad de Guanajuato, México.

Ganter, J.L.M.S., Reichter, F. 1999. Water-soluble galactomannans from seeds of Mimosaceae spp. *Bioresource Technology* 68: 55 – 62

Giovannetti, Marco A., Lema, Verónica S., Bartoli Carlos G., Capparelli, Aylen. 2008. Starch grain characterization of *Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz and *P. flexuosa* DC, and the analysis of their archaeological remains in Andean South America. *Journal of Archaeological Science*: 35: 2973 - 2985.

González Galán, A., A. Diarte Correa, C. M. Patto de Abreu, M F. Piccolo Barcelos. 2008. Caracterización química de la harina del fruto de *Prosopis* spp. procedente de Bolivia y Brasil. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58 (3): 309 – 314.

Grados, N. and G. Cruz. 1996. New Approaches to Industrialization of Algarrobo (*Prosopis pallida*) Pods in Peru. A Workshop: *Prosopis*: Semiarid Fuelwood and Forage Tree Building Consensus for the Disenfranchised. Eds. P. Felker and J. Moss. Washington, DC.

Grados, N.; Bravo L. y Saura-Calixto, F. Estudio comparativo entre algarroba peruana (*Prosopis pallida*) y mediterránea (*Ceratonia siliqua*). *Boletín de la Sociedad Química del Perú*, 103 – 115.

Grados, N. & Cruz, G. 1996. U. S. National Academy of Science, Kingsville, TX.

Granito, M., Guerra, M; Torres, A. y Guinand, J. 2004. Efecto del procesamiento sobre las propiedades funcionales de *Vigna sinensis*. *INCI*, 29 (9).

Gujral, H. S., Paras Sharma, Singh Rachna. 2011. Effect of sand roasting on beta glucan extractability, physicochemical and antioxidant properties of oats, *LWT - Food Science and Technology*, 44: 2223 - 2230.

Gusmao Pinto Vieira, I., Pereira Mendes, F. N.; Gallaõ, M.I.; Sousa de Brito, E. 2005. NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC). *Food Chemistry*, 101 (2007) 70 – 73

Hardeep Singh Gujral, Paras Sharma, Singh Rachna. 2011. Effect of sand roasting on beta glucan extractability, physicochemical and antioxidant properties of oats. *Food Science and Technology*, 44: 2223-2230.

Henning, M. 1994. Crystallization of Seed Globulins from Legumes. *Acta Cryst. D50*: 627 – 631.

Hernández, J. R., Hennen, J. 2003. Rust fungi causing galls, witches' brooms, and other abnormal plant growths in northwestern Argentina. *Mycologia*, 95 (4), 728-755.

Hernández Tinoco, A. Ramos-Ramirez, E. G.; Falcony-Guajardo, C. y Salazar-Montoya, J. A. 2004. Rheometry and scanning electron microscopy study of casein curds added with mesquite gum and soy protein. *Latin American Applied Research* 34: 195 - 202.

Hickey, Leo J. 1974. Clasificación de la Arquitectura de las Hojas de Dicotiledóneas. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 16 (1-2): 1 - 26.

Hirschi, K. 2008. Nutritional improvements in plants: time to bite on biofortified foods. *Trends in Plant Science*, 13 (9).

Hoc, P. S., Agulló, M. A. and Palacios R. A. 1994. Styler trimorphism in four functionally andromonoecious *Prosopis* species (Mimosaceae). *Pl. Syst. Evol.*, 190: 143 – 156.

Hoc, P. S., Agulló, M. A. and Palacios R. A. 1995. Functional Andromonoecy in *Prosopis alba* Griseb. (Mimosaceae). The Effect of Abiotic and Biotic Factors on the Reproductive System. *Beitr. Biol. Pflanzen*, 69: 191 – 218.

- Hunziker, J. H.; Poggio, L.; Naranjo, C. A.; Palacios, R. A. & Andrada, A. B. 1975. Cytogenetic of some species and natural hybrids in *Prosopis* (Leguminosae). *Canadian J. Genetics Cytol.*, 17: 253 – 262
- Hultine, K. R. 2001. The Taxonomy of North and South American Mesquites: How Many Species are There? *Aridus*, 13 (2): 1-3.
- Ibañez, M. C., C. Ferrero. 2003. Extration and characterization of the hydrocolloid from *Prosopis flexuosa* DC seeds. *Food Research International*, 36: 455 – 460.
- Ibrahim, K. M. 1996. *Prosopis* Species in the South-western United States. Their Utilization and Research. *Prosopis: Semiarid Fuelwood and Forage Tree Building Consensus for the Disenfranchised*. U. S. National Academy of Sciences Building. Eds. P. Felker and J. Moss.
- Iglesias, H. A. & Chrife, J. 1995. An alternative to the Guggenheim, Anderson and De Boer model for the mathematical description of moisture sorption isotherms of foods. *Food Research International*, 28: 317 – 321.
- INAL. 2009. Análisis de gluteninas de harinas de *Prosopis*.
- INCUPOL/ SAGPyA. Instituto de Cultura Popular. 2003. Catálogo de Tecnologías para pequeños Productores Agropecuarios. La elaboración de harina de algarrobo.
- INTA. 2006. Análisis centesimal y microbiológico de harinas de *Prosopis alba* en la localidad de Las Lomitas, provincia de Formosa, Argentina.
- Johnston, M. C., 1962. The North American Mesquites. *Prosopis* Sect. Algarobia (Leguminosae). *Brittonia*, 14: 72 – 90.
- Ju, Z.Y., N.S. Hettiarachchy, N. Rath. 2001. Extraction, Denaturation and Hydrophobic Properties of Rice Flour Proteins. *Journal of Food Science* 66 (2): 229 – 232.
- Karlin, U.O. 1979. Manejo de leñosas en regiones ganaderas. Publ. Curso Producción Animal en Regiones Áridas. INTA, Dean Funes. Córdoba. 12 pp.
- Kaptso, K. G., Njintang, Y.N., Komnek, J., Hounhouigan, J., Scher, J., Mbofung, C.M.F. 2008. Physical properties and rehydration kinetics of two varieties of cowpea (*Vigna unguiculata*) and bambara groundnuts (*Voandzeia subterranea*) seeds. *Journal of Food Engineering*, 86: 91 - 99.
- Kaptso, K.G., Njintang, Y.N., Hounhouigan, J., Scher J. & Mbofung, C.M.F. 2007. Dehydration kinetic and functional properties of two varieties of bambara groundnuts (*Vigna subterranea*) seeds and flour as affected by temperature and particle size. (com. pers.).
- Kiesling, R. 2003. Flora de San Juan, República Argentina. Vazquez Manzini Eds. II: 256 p.
- Krokida, M. K., Maroulis, Z. B. and Saravacos, G. D. 2001. The effect of the method of drying on the colour of dehydrated products. *Int. J. Food Sci. Tech.* (36) 53 – 59.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685.
- Lin, M. J. Y., Humbert, E. S. 1974. Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science*, 39: 368 – 370.
- Lindquist, J. C. 1982. Royas de la República Argentina y zonas limítrofes. Edic. INTA. Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación, INTA, República Argentina.
- Lomas Mercado, K. K. 2011. Caracterización nutricional del algarrobo (*Prosopis* spp.) en el Departamento de Cochabamba. Tesis de grado: Licenciatura en Biología. UMSM. Bolivia.
- Lott, J. N. A. and M. S. Buttrose. 1977. *Aust. J. Plant Physiol.*, 5: 89 – 111.
- Lumry, R and Enrye, H. 1954. Conformation changes of proteins. 68: 110 – 120.
- Maldonado-Aguirre, L. J., de la Garza de la P., F. 2000. El Mezquite en México: Rasgos de Importancia Productiva y Necesidades de Desarrollo. 2000. El Mezquite árbol de usos múltiples. Estado actual del conocimiento en México. Eds. Frías Hernández, J.T., Olalde Portugal, V., Vernon Carter, J. Universidad de Guanajuato, México.
- Malver. Principio de la medición del equipo
http://www.malvern.com/LabEng/technology/laser_diffraction/particle_sizing.htm
- Martinez, S. 1984. Arquitectura foliar de las especies del género *Prosopis*. *Darwiniana*, 25 (1-4): 279-297.
- Mazzuferi, V. E. 2000. Plagas en *Prosopis*. *Multiequina* 9 (2): 107 – 117.
- Mazzuferi, V. E. y M. Y. Conles. 2005. Insectos y hongos que afectan las semillas de *Prosopis*. En: Conservación de Recursos Forestales Nativos

en Argentina. El Banco Nacional de Germoplasma de *Prosopis*. Eds.: Verzino, G. E. y M. J. Joseau. Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Mc Cune, B. and Grace, J. B. 2002. Analysis of Ecological Communities. MjM Software Design. Gleneden Beach, Oregon.

Mc Garigal, K., Cushman, S., Stafford, S. 2000. Multivariate Statistics for Wildlife and Ecology Research. Springer – Verlag.

Meyer, D., R. Becker, M. R. Gumbmann, Pran Vohra, H. Neukom, and R. M. Saunders. 1986. Processing, Composition, Nutritional Evaluation and Utilization of Mesquite (*Prosopis* spp.) Pods as a Raw Material for the Food Industry. *J. Agric. Food Chem.*, 34: 914 – 919.

Morello, J. H., N. Crudelli & M. Sarraceno, 1971. Los vinalares de Formosa. En: La vegetación de la República Argentina. INTA. Publ. Ser. *Fitogeogr.*, 1: 1 – 113.

Nagmani, B.; Prakash, J. 1977. Functional properties of thermally treated legume flours. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 48: 205 – 214.

Nissreen Abu-Ghannam & Mc Kenna, B. 1997. The Application of Peleg's Equation to Model Water Absorption during the Soaking of Red Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food Engineering*, 32: 391 – 401.

NM Pasiecznik, 2001. The *Prosopis juliflora* – *P. pallida* Complex: A Monograph. HDRA Coventry, UK ISBN 0 905343 301.

Nwabueze, T. U. 2006. Water/Oil absorption and solubility Indices of Extruded African Breadfruit (*Treculia africana*) Blends. *Journal of food Technology*, 4 (1): 64 - 69.

O'Brien, T. P & Mc Culley, M. E. 1981. The study of plant structure, principles and selected methods. Termarcaphi Pty. Ltd. Melbourne.

Ochoa de Cornelli, M. J. 1996. A review of the Social and Economic Opportunities for *Prosopis* (Algarrobo) in Argentina. *Prosopis: Semi-arid Fuelwood and Forage Tree Building Consensus for the Disenfranchised*. U.S. National Academy of Sciences Building. Eds. P. Felker and J. Moss.

Oladele, A. K and Aina, J. O. 2007. Chemical composition and functional properties of flour produced from two varieties of tigernut (*Cyperus esculentus*). *African Journal of Biotechnology*, 6 (21): 2473 - 2476.

Ortiz de Bertorelli, L. y Ramírez, A. 2000. Estudio electroforético de las albúminas y globulinas de cuatro genotipos de *Canavalia ensiformis*. *A LAN*, 50: 1.

Padmashere, T. S., Vijayalakshmi, L., Shashikala, P. 1987. Effect of traditional processing on the functional properties of frijol flour. *J. Food Sci. Technol.* 24: 221 - 225.

Pak, N.; Araya, H.; Villalón, R. & Tagle, M. 1977. Analytical Study of Tamarugo (*Prosopis tamarugo*) an Autochthonous Chilean Feed. *J Sci Food & Agric* 28: 59 - 62

Palacios, R.A. 2006. Los Mezquites Mexicanos: Biodiversidad y Distribución geográfica. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 41 (1 - 2): 99 - 121.

Palacios, R. A., 1981. Hibridación Natural en *Prosopis* (Leguminosae) en la región chaqueña argentina. Evidencias morfológicas y cromatográficas. *Darwiniana*, 23 (1): 3 -35.

Palacios, R. A., Bravo, L. 1974. Estudio morfológico de las semillas de algunos *Prosopis* del nordeste argentino. *Darwiniana*, 18: 437 - 452.

Palacios, R. A., Bravo, L. 1974. Estudio morfológico de las semillas de *Prosopis* II: algunas especies norteamericanas y neotropicales. *Darwiniana*, 19 (2 - 4): 357 - 372.

Palacios, R. A., Brizuela, M. 2005. *Prosopis*: Historia y elementos para su domesticación. *Agrociencia* IX (1 y 2): 41 – 51.

Pedrosa Silva Clerici, M. T., C. Aioldi, A. A. El-Dash. 2008. Production of acidic extruded rice flour and its influence on the qualities of gluten-free bread. *Food Science and Technology* XXX 1 – 6.

Perry, G. 1988. *Prosopis*. *Flora of Australia*, 12: 7 - 13. Phillips, Chinning, Branch, Miller and Watters.

Pilosof, A. M., Boquet, R. & Bartholomai, G. B. 1985. Kinetics of water uptake by food powders. *Journal of Food Science*, 50: 278 – 282.

Pilosof, A. M. R y Bartholomai, G. B. 2000. Caracterización funcional y estructural de proteínas. Ed. Eudeba Buenos Aires, Argentina.

Pilosof, A. M. R. 2011. Caracterización del tamaño de proteínas por dispersión dinámica de la luz. Curso Post-grado: Funcionalidad y utilización de proteínas alimentarias. Departamento de Industrias. FCEN-UBA.

Prates, Luciano. 2009. El uso de recursos por los cazadores-recolectores posthispánicos de Patagonia continental y su importancia arqueológica. Relaciones de la Sociedad Argentina de Antropología XXXIV.

Prokopiuk, D. B. 2004. Sucedáneo del café a partir de algarroba (*Prosopis alba* Griseb.). Tesis de Doctorado. Universidad de Valencia.

Ramirez, A. and Pacheco de Delahaye, E. 2009. Functional properties of starches with high dietetic fiber content obtained from pineapple, guava, and soursop. *INCI* 34, 4: 293 – 298.

Ramos-Ramirez, E. G., Falcony-Guajardo, C. and Salazar-Montoya, J. A. 2004. Rheometry and scanning electron microscopy study of casein curds added with mesquite seed gum and soy protein. *Latin American Applied Research* 34: 195 – 202.

Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17, 208.

Ridout, M. J., Gunning, A. P., Parker, M. L., Wilson, R. H. & Morris, V. J. 2002. Using AFM to image the internal structure of starch granules. *Carbohydr. Polym.*, 50: 123 – 132.

Rhodes, Martin. 2008. Particle Size Analysis. 1 - 27. Introduction to Particle Technology. 2nd Edition. John Wiley & Sons Ltd.

Roig, F.A. 1993. Informe Nacional para la Selección de Germoplasma en especies de *Prosopis* de la República Argentina. Contribuciones Mendocinas a la Quinta Reunión Nacional para América Latina y Caribe de la Red de Forestación del CIID: 99-119. IADIZA – CRECIT. Unidad de Botánica y Fisiología Vegetal (IADIZA).

Ruiz, W; Cruz, G.; Grados, N. Aprovechamiento integral de la algarroba (*Prosopis* sp) como medio para impulsar y promover el desarrollo sostenible de los bosques secos de la Región Grau. Universidad de Piura, II, 91 - 106. Piura, Perú.

Rzedowski, J. 1988. Análisis de la distribución geográfica del complejo *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae) en Norteamérica. *Acta Bot. Mexicana*, 3: 7 - 18.

Sangronis, E., Machado, C., Cava, R. 2004. Propiedades funcionales de las harinas de leguminosas (*Phaseolus vulgaris* y *Cajan cajan*) germinadas. *Interciencia*, 2 (002): 80 – 95.

Sathe, S. K. & Venkatachalam, M. 2007. Fractionation and biochemical characterization of moth bean (*Vigna aconitifolia* L.) proteins. *LWT*, 40: 600 – 610.

Sathe, S. K. 2002. Dry bean protein functionality. *Crit. Rev. Biotechn.*, 22: 175 – 223.

Sathe, S. K. and Salunkhe, D. K. 1981. Functional Properties of the Great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Proteins: Emulsion, Foaming, Viscosity, and Gelation Properties. *Journal of Food Science*, 46: 71 – 81.

Saunders, R. M., Becker, R. and Meyer, D. 1986. *Forest Ecology and Management*, 16, 169 - 181.

Saura, C., G. Abia y G. Clavijo. 1991. Características Químicas del Endocarpio del Fruto del Algarrobo Peruano (*Prosopis pallida*). *Boletín de la Sociedad Química del Perú*, 57(4): 245 - 250.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGPyA-Dirección de Política Forestal Nacional). 2000. Proyecto Nacional del Algarrobo y el Caldén. 2000 -INTA, IADIZA, IIFA.

Sgarbieri, V. 1998. Propiedades funcionais de proteínas em alimentos. *Bol. SBCTA*. 32:105 - 126.

Schägger, H & G. von Jagow. 1991. Blue native electrophoresis for isolation of membrane protein complexes in enzymatically active form. *Analytical Biochemistry*, 199: 223 - 231.

Shittu, T. A., Awonorin, S. O. y Raji, A. O. 2004. Evaluating some empirical models for predicting water absorption in African breadfruit (*Treculia africana*) seeds. *International Journal of Food Properties*, 7: 585 – 602.

Silva, M. P., Martinez, M. J, Coirini, R, Brunetti, M. A., Balzrini, M. y Karlin U. 2000. Valoración nutritiva del fruto del algarrobo blanco (*Prosopis chilensis*) bajo distintos tipos de almacenamientos. *Multiequina*, 9: 65 – 74.

Simpson, B. B.1977. Mesquite. US/IBP Synthesis Series/ 4. Ed. B. B. Simpson. Dowden, Hutchinson y Ross, Inc., Stroudsburg, Pennsylvania.

Singh, B. P. N. & Kulshrestha, S. P. 1987. Kinetics of water sorption by soybean and pigeonpea grains. *Journal of Food Science*, 52: 1538 – 1541, 1544.

- Sirivongpaisal, P. 2008. Structure and functional properties of starch and flour from bambarra groundnut. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 30 (Supl.1), 51 - 56.
- Smith, Jr., C. Earle, 1967. Plant remains, en Ed. Douglas S. Byers, The Prehistory of the Tehuacan Valley, 1: 220 - 255.
- Solbrig, O. T. & P. D. Cantino, 1975. Reproductive adaptations in *Prosopis* (Leguminosae, Mimosoideae). *Journal of the Arnold Arboretum* 56 (2): 185 - 210.
- Sopade, P.A., Pang Yu Xun, Halley, P.J., Hardin, M. 2007. Equivalence of the Peleg, Pilosof and Singh-Kulshrestha models for water absorption in food. *Journal of Food Engineering*, 78: 730 – 734.
- Spurr, A.R. 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*, 26: 31 – 43
- Statgraphics Plus ® version 5.1 (Statistical graphics Corporation, U.S.A.)
- Takeoka, G. R., Wong, R. Y., Dao L., Felker, P. 2009. Identification of 5, 6-dihydro-6-propyl-2H-pyran-2-one as the major volatile constituent in mesquite (*Prosopis*) flour. *Food Chemistry* 115: 1025 – 1027.
- Trobok V., S. 1985. Morfología de Frutos y Semillas de *Prosopis* (Fabaceae – Mimosoideae) chilenos. Departamento de Producción Agrícola. Universidad de Chile.
- Tsumura Kazunobu, Tsutomu Saito, Keisuke Tsuge, Hiroko Ashida, Wataru Kugimiya, Kuniyo Inouye. 2005. Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. *LWT*, 38: 255 – 261.
- Turgeon, S. L., M. Beaulieu, C. Schmitt, C. Sanchez. 2003. Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 8: 401 – 414.
- Turhan, M., Sayar, S. & Gunasekaran, S. 2002. Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. *Journal of Food Engineering*, 53: 153 – 159.
- Utsumi, S, Matsumara, Y. and Mori, T. 1997. Structure-Function Relationships of Soy Proteins. En: Food Proteins and their applications. Ed. Srinivasan Damodaran - Alain Paraf. Dekker, Inc, NY,USA.
- Verga, A., Córdoba, A., Mottura, M., López Lauenstein D., Melchiorre M., Joseau, J., Carranza C., Ledesma, M., Recalde, D., Tomalino, L., Mendoza, S. y Vega, R. El proyecto Algarrobo del INTA. *Idia XXI*: 195 - 200.
- Verga, A., C. López, M. Naval, J. Joseau, C. Gómez, O. Royo, W. Degano y M. Marcó. Caracterización morfológica, distribución geográfica y estimación de nichos ecológicos de algarrobos (*Prosopis* sp.) en las regiones fitogeográficas Chaqueña y Espinal norte de Argentina.
- Vilela, A. E. 1996. Morfología y Anatomía foliar de especies Sudamericanas del género *Prosopis* (Leguminosae-Mimosoideae): Un enfoque adaptativo. Tesis Doctoral. FCEN – UBA.
- Vilela, A., Rennella, M. J. & Ravetta, D. 2003. Responses of tree-type and shrub-type *Prosopis* (Mimosaceae) taxa to water and nitrogen availabilities. *Forest Ecology and Management*, 186: 327 – 337.
- Villagra, P. E., M. A. Cony, N. G. Mantován, B. E. Rossi, M. M. González Loyarte, R. Villalba y L. Marone. 2004. Ecología y manejo de los algarrobales de la Provincia Fitogeográfica del Monte. Ed. Arturi, M. F.; J. L. Frangi y J. F. Goya.
- Villagra, P. E. 2000. Aspectos ecológicos de los algarrobales argentinos. *Multiequina* 9 (2): 35 – 51.
- Villagra, P. E.; Marone, L.; Cony, M. A. 2002. Mechanisms affecting the fate of *Prosopis flexuosa* (Fabaceae, Mimosoideae) seeds during early secondary dispersal in the Monte Desert, Argentina. *Austral Ecology*, 27: 416 – 421.
- Villanueva, N., Acuña, I. 2012. Evaluación de un extracto azucarado elaborado a partir del fruto del cuji (*Prosopis juliflora*). Centro de Investigaciones Tecnológicas. Universidad Nacional Experimental Francisco de Miranda.
- Vijayakumari, K., P. Siddhuraju & K. Janardhanan. 1997. Effect of domestic processing on the levels of certain antinutrients in *Prosopis chilensis* (Molina) Stuntz. *Food Chemistry*, 59 (3): 367 – 371.
- von Staszewski, M., R. J. Jagus, A. M. R. Pilosof. 2011. Influence of green tea polyphenols on the colloidal stability and gelation of WPC. *Food Hydrocolloids*, 25: 1077 – 1084.
- Westland, S. 2001. Colourxare Ltd. www.gusgsm.com/faqcolor.

8. Anexo

Distribución de tamaño de partícula de la harina (datos de distribución de frecuencia) de *Prosopis alba*.

Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %
0.010	0.00	0.363	0.00	13.183	0.60	478.630	0.21
0.011	0.00	0.417	0.00	15.136	0.72	549.541	0.11
0.013	0.00	0.479	0.00	17.378	0.97	630.957	0.07
0.015	0.00	0.550	0.00	19.953	1.43	724.436	0.07
0.017	0.00	0.631	0.00	22.909	2.16	831.764	0.06
0.020	0.00	0.724	0.08	26.303	3.16	954.993	0.00
0.023	0.00	0.832	0.20	30.200	4.43	1096.478	0.00
0.026	0.00	0.955	0.27	34.674	5.85	1258.925	0.00
0.030	0.00	1.096	0.25	39.811	7.28	1445.440	0.00
0.035	0.00	1.259	0.21	45.709	8.52	1659.587	0.00
0.040	0.00	1.445	0.17	52.481	9.36	1905.461	0.00
0.046	0.00	1.660	0.13	60.256	9.63	2187.762	0.00
0.052	0.00	1.905	0.12	69.183	9.26	2511.886	0.00
0.060	0.00	2.188	0.13	79.433	8.28	2884.032	0.00
0.069	0.00	2.512	0.14	91.201	6.86	3311.311	0.00
0.079	0.00	2.884	0.16	104.713	5.21	3801.894	0.00
0.091	0.00	3.311	0.19	120.226	3.63	4365.158	0.00
0.105	0.00	3.802	0.22	138.038	2.29	5011.872	0.00
0.120	0.00	4.365	0.26	158.489	1.34	5754.399	0.00
0.138	0.00	5.012	0.31	181.970	0.75	6606.934	0.00
0.158	0.00	5.754	0.36	208.930	0.45	7585.776	0.00
0.182	0.00	6.607	0.42	239.883	0.34	8709.636	0.00
0.209	0.00	7.586	0.47	275.423	0.32	10000.000	0.00
0.240	0.00	8.710	0.50	316.228	0.34		
0.275	0.00	10.000	0.53	363.078	0.34		
0.316	0.00	11.482	0.55	416.869	0.29		
0.363	0.00	13.183		478.630			

Distribución de tamaño de partícula de la harina (datos de distribución de frecuencia) de *Prosopis chilensis*.

Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %
0.010	0.00	0.363	0.00	13.183	0.16	478.630	7.12
0.011	0.00	0.417	0.00	15.136	0.18	549.541	6.20
0.013	0.00	0.479	0.00	17.378	0.21	630.957	5.02
0.015	0.00	0.550	0.00	19.953	0.24	724.436	3.69
0.017	0.00	0.631	0.00	22.909	0.31	831.764	2.29
0.020	0.00	0.724	0.00	26.303	0.41	954.993	0.00
0.023	0.00	0.832	0.00	30.200	0.57	1096.478	0.00
0.026	0.00	0.955	0.00	34.674	0.80	1258.925	0.00
0.030	0.00	1.096	0.00	39.811	1.10	1445.440	0.00
0.035	0.00	1.259	0.00	45.709	1.46	1659.587	0.00
0.040	0.00	1.445	0.00	52.481	1.85	1905.461	0.00
0.046	0.00	1.660	0.00	60.256	2.24	2187.762	0.00
0.052	0.00	1.905	0.00	69.183	2.58	2511.886	0.00
0.060	0.00	2.188	0.00	79.433	2.85	2884.032	0.00
0.069	0.00	2.512	0.00	91.201	3.03	3311.311	0.00
0.079	0.00	2.884	0.00	104.713	3.14	3801.894	0.00
0.091	0.00	3.311	0.00	120.226	3.24	4365.158	0.00
0.105	0.00	3.802	0.00	138.038	3.40	5011.872	0.00
0.120	0.00	4.365	0.00	158.489	3.70	5754.399	0.00
0.138	0.00	5.012	0.00	181.970	4.18	6606.934	0.00
0.158	0.00	5.754	0.02	208.930	4.85	7585.776	0.00
0.182	0.00	6.607	0.05	239.883	5.67	8709.636	0.00
0.209	0.00	7.586	0.07	275.423	6.51	10000.000	0.00
0.240	0.00	8.710	0.10	316.228	7.22		
0.275	0.00	10.000	0.12	363.078	7.63		
0.316	0.00	11.482	0.14	416.869	7.62		
0.363	0.00	13.183		478.630			

Distribución de tamaño de partícula de la harina (datos de distribución de frecuencia) de *Prosopis flexuosa*.

Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %	Size (µm)	Volume In %
0.010	0.00	0.363	0.00	13.183	1.75	478.630	1.14
0.011	0.00	0.417	0.00	15.136	2.13	549.541	1.57
0.013	0.00	0.479	0.00	17.378	2.62	630.957	1.90
0.015	0.00	0.550	0.01	19.953	3.22	724.436	1.98
0.017	0.00	0.631	0.03	22.909	3.94	831.764	1.61
0.020	0.00	0.724	0.09	26.303	4.73	954.993	0.00
0.023	0.00	0.832	0.20	30.200	5.55	1096.478	0.00
0.026	0.00	0.955	0.23	34.674	6.31	1258.925	0.00
0.030	0.00	1.096	0.23	39.811	6.92	1445.440	0.00
0.035	0.00	1.259	0.20	45.709	7.27	1659.587	0.00
0.040	0.00	1.445	0.16	52.481	7.30	1905.461	0.00
0.046	0.00	1.660	0.15	60.256	6.96	2187.762	0.00
0.052	0.00	1.905	0.15	69.183	6.28	2511.886	0.00
0.060	0.00	2.188	0.17	79.433	5.30	2884.032	0.00
0.069	0.00	2.512	0.21	91.201	4.16	3311.311	0.00
0.079	0.00	2.884	0.26	104.713	2.96	3801.894	0.00
0.091	0.00	3.311	0.33	120.226	1.86	4365.158	0.00
0.105	0.00	3.802	0.40	138.038	0.92	5011.872	0.00
0.120	0.00	4.365	0.49	158.489	0.28	5754.399	0.00
0.138	0.00	5.012	0.58	181.970	0.02	6606.934	0.00
0.158	0.00	5.754	0.68	208.930	-0.00	7585.776	0.00
0.182	0.00	6.607	0.79	239.883	0.01	8709.636	0.00
0.209	0.00	7.586	0.92	275.423	0.05	10000.000	
0.240	0.00	8.710	1.06	316.228	0.15		
0.275	0.00	10.000	1.24	363.078	0.36		
0.316	0.00	11.482	1.46	416.869	0.71		
0.363		13.183		478.630			

Distribución de tamaño de partícula de la harina (datos de distribución de frecuencia acumulada) de *Prosopis alba*.

size µ	volume In %	vol acumulado	Y2	Y3
0,631	0	0	-4,60517019	0
0,724	0,08	0,08	-4,60436987	0,0008
0,832	0,2	0,28	-4,60236626	0,0028
0,955	0,27	0,55	-4,59965501	0,0055
1,096	0,25	0,8	-4,59713801	0,008
1,259	0,21	1,01	-4,59501883	0,0101
1,445	0,17	1,18	-4,59330001	0,0118
1,66	0,13	1,31	-4,59198362	0,0131
1,905	0,12	1,43	-4,59076696	0,0143
2,188	0,13	1,56	-4,58944723	0,0156
2,152	0,14	1,7	-4,58802403	0,017
2,884	0,16	1,86	-4,58639503	0,0186
3,311	0,19	2,05	-4,58445714	0,0205
3,02	0,22	2,27	-4,58220857	0,0227
4,365	0,26	2,53	-4,57954464	0,0253
5,012	0,31	2,84	-4,5763591	0,0284
5,754	0,36	3,2	-4,57264699	0,032
6,607	0,42	3,62	-4,56829871	0,0362
7,586	0,47	4,09	-4,56341025	0,0409
8,71	0,5	4,59	-4,55818339	0,0459
10	0,53	5,12	-4,55261294	0,0512
11,482	0,55	5,67	-4,54679927	0,0567
13,183	0,6	6,27	-4,54041831	0,0627
15,136	0,72	6,99	-4,53270701	0,0699
17,378	0,97	7,96	-4,5222327	0,0796
19,953	1,43	9,39	-4,50656458	0,0939
22,909	2,16	11,55	-4,48243742	0,1155
26,303	3,16	14,71	-4,44605721	0,1471
30,2	4,43	19,14	-4,39271926	0,1914
34,674	5,85	24,99	-4,31762144	0,2499
39,811	7,28	32,27	-4,21552921	0,3227
45,709	8,52	40,79	-4,08109045	0,4079
52,481	9,36	50,15	-3,9090185	0,5015
60,256	9,63	59,78	-3,69436438	0,5978
69,183	9,26	69,04	-3,43269605	0,6904
79,433	8,28	77,32	-3,12148348	0,7732
91,201	6,86	84,18	-2,76127496	0,8418
104,713	5,21	89,39	-2,36179695	0,8939
120,226	3,63	93,02	-1,94304892	0,9302
138,038	2,29	95,31	-1,54543258	0,9531
158,489	1,34	96,65	-1,20896035	0,9665
181,97	0,75	97,4	-0,95551145	0,974
208,93	0,45	97,85	-0,76546784	0,9785
239,883	0,34	98,19	-0,59332685	0,9819
275,423	0,32	98,51	-0,39877612	0,9851
316,228	0,34	98,85	-0,13976194	0,9885
363,078	0,34	99,19	0,21072103	0,9919
416,869	0,29	99,48	0,65392647	0,9948
478,63	0,21	99,69	1,17118298	0,9969
549,541	0,11	99,8	1,60943791	0,998
630,957	0,07	99,87	2,04022083	0,9987
724,436	0,07	99,94	2,81341072	0,9994
831,764	0,06	100	#i DIV/0!	1
954,993	0	100	#i DIV/0!	1

Distribución de tamaño de partícula de la harina (datos de distribución de frecuencia acumulada) de *Prosopis chilensis*.

x size μ	volume ln %	vol acumulado	Y2	Y3
5,012	0	0	-4,60517019	0
5,754	0,02	0,02	-4,60497017	0,0002
6,607	0,05	0,07	-4,60446994	0,0007
7,586	0,07	0,14	-4,60376921	0,0014
8,71	0,1	0,24	-4,6027673	0,0024
10	0,12	0,36	-4,60156369	0,0036
11,482	0,14	0,5	-4,60015764	0,005
13,183	0,16	0,66	-4,59854831	0,0066
15,136	0,18	0,84	-4,59673471	0,0084
17,378	0,21	1,05	-4,59461467	0,0105
19,953	0,24	1,29	-4,59218626	0,0129
22,909	0,31	1,6	-4,5890408	0,016
26,303	0,41	2,01	-4,58486543	0,0201
30,2	0,57	2,58	-4,57903153	0,0258
34,674	0,8	3,38	-4,57078576	0,0338
39,811	1,1	4,48	-4,55933565	0,0448
45,709	1,46	5,94	-4,54393288	0,0594
52,481	1,85	7,79	-4,52406858	0,0779
60,256	2,24	10,03	-4,49947628	0,1003
69,183	2,58	12,61	-4,47038086	0,1261
79,433	2,85	15,46	-4,4372248	0,1546
91,201	3,03	18,49	-4,40072571	0,1849
104,713	3,14	21,63	-4,3614412	0,2163
120,226	3,24	24,87	-4,31921995	0,2487
138,038	3,4	28,27	-4,27290907	0,2827
158,489	3,7	31,97	-4,21994878	0,3197
181,97	4,18	36,15	-4,15653658	0,3615
208,93	4,85	41	-4,07753744	0,41
239,883	5,67	46,67	-3,97649902	0,4667
275,423	6,51	53,18	-3,84631046	0,5318
316,228	7,22	60,4	-3,67882912	0,604
363,078	7,63	68,03	-3,46479796	0,6803
416,869	7,62	75,65	-3,19253185	0,7565
478,63	7,12	82,77	-2,84665205	0,8277
549,541	6,2	88,97	-2,40061883	0,8897
630,957	5,02	93,99	-1,79342475	0,9399
724,436	3,69	97,68	-0,84156719	0,9768
831,764	2,29	99,97	3,5065579	0,9997
954,993	0	99,97	3,5065579	0,9997

Distribución de tamaño de partícula de la harina (datos de distribución de frecuencia acumulada) de *Prosopis flexuosa*.

x size μ	volume ln%	vol acumulado	Y2	Y3
0,479	0	0	-4,60517019	0
0,55	0,01	0,01	-4,60507018	0,0001
0,631	0,03	0,04	-4,60477011	0,0004
0,724	0,09	0,13	-4,60386934	0,0013
0,832	0,2	0,33	-4,60186473	0,0033
0,955	0,23	0,56	-4,59955445	0,0056
1,096	0,23	0,79	-4,59723882	0,0079
1,259	0,2	0,99	-4,59522086	0,0099
1,445	0,16	1,15	-4,59360355	0,0115
1,66	0,15	1,3	-4,59208495	0,013
1,905	0,15	1,45	-4,59056403	0,0145
2,188	0,17	1,62	-4,58883753	0,0162
2,512	0,21	1,83	-4,58670067	0,0183
2,884	0,26	2,09	-4,58404869	0,0209
3,311	0,33	2,42	-4,58067255	0,0242
3,802	0,4	2,82	-4,57656493	0,0282
4,365	0,49	3,31	-4,57150998	0,0331
5,012	0,58	3,89	-4,56549337	0,0389
5,754	0,68	4,57	-4,55839299	0,0457
6,607	0,79	5,36	-4,55008022	0,0536
7,586	0,92	6,28	-4,54031161	0,0628
8,71	1,06	7,34	-4,52893688	0,0734
10	1,24	8,58	-4,51546427	0,0858
11,482	1,46	10,04	-4,49936513	0,1004
13,183	1,75	11,79	-4,47972034	0,1179
15,136	2,13	13,92	-4,4552771	0,1392
17,378	2,62	16,54	-4,42436748	0,1654
19,953	3,22	19,76	-4,38502214	0,1976
22,909	3,94	23,7	-4,33467294	0,237
26,303	4,73	28,43	-4,27067599	0,2843
30,2	5,55	33,98	-4,18995773	0,3398
34,674	6,31	40,29	-4,08949951	0,4029
39,811	6,92	47,21	-3,96632178	0,4721
45,709	7,27	54,48	-3,81815179	0,5448
52,481	7,3	61,78	-3,64335894	0,6178
60,256	6,96	68,74	-3,44233932	0,6874
69,183	6,28	75,02	-3,2180755	0,7502
79,433	5,3	80,32	-2,97960289	0,8032
91,201	4,16	84,48	-2,74212951	0,8448
104,713	2,96	87,44	-2,53051716	0,8744
120,226	1,86	89,3	-2,37024374	0,893
138,038	0,92	90,22	-2,28033948	0,9022
158,489	0,28	90,5	-2,2512918	0,905
181,97	0,02	90,52	-2,24918432	0,9052
208,93	0	90,52	-2,24918432	0,9052
239,883	0,01	90,53	-2,24812891	0,9053
275,423	0,05	90,58	-2,24283509	0,9058
316,228	0,15	90,73	-2,22678338	0,9073
363,078	0,36	91,09	-2,18717424	0,9109
416,869	0,71	91,8	-2,10413415	0,918
478,63	1,14	92,94	-1,95444505	0,9294
549,541	1,57	94,51	-1,70292826	0,9451
630,957	1,9	96,41	-1,2781522	0,9641
724,436	1,98	98,39	-0,47623418	0,9839
831,764	1,61	100	31,88477031	1
954,993	0	100	31,88477031	1

Resultados estadísticos- Test de Tukey para la luminosidad (L)

Contraste Múltiple de Rango

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey				
	Frec.	Media	Grupos homogéneos	
alba	3	53,3667	X	
chilensis	3	64,7033	X	
flexuosa	3	71,37	X	

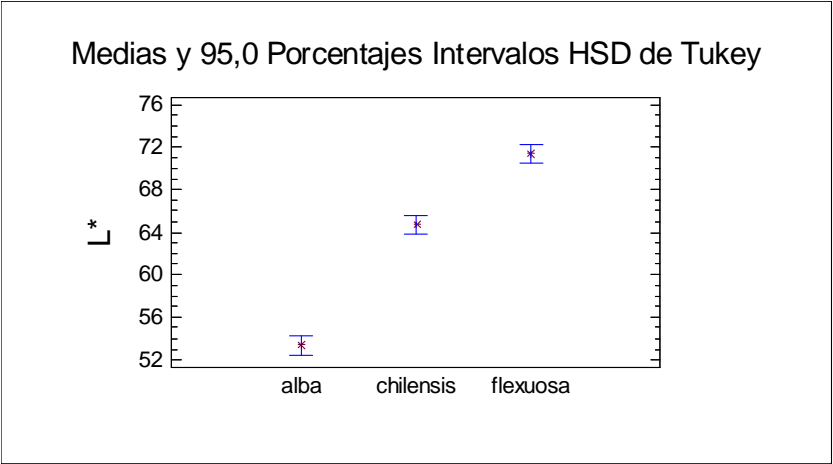
Contraste			Diferencias	+/- Lími

alba - chilensis			*-11,3367	1,80921
alba - flexuosa			*-18,0033	1,80921
chilensis - flexuosa			*-6,66667	1,80921

* indica una diferencia significativa.				

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior de la salida muestra la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método actualmente utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.



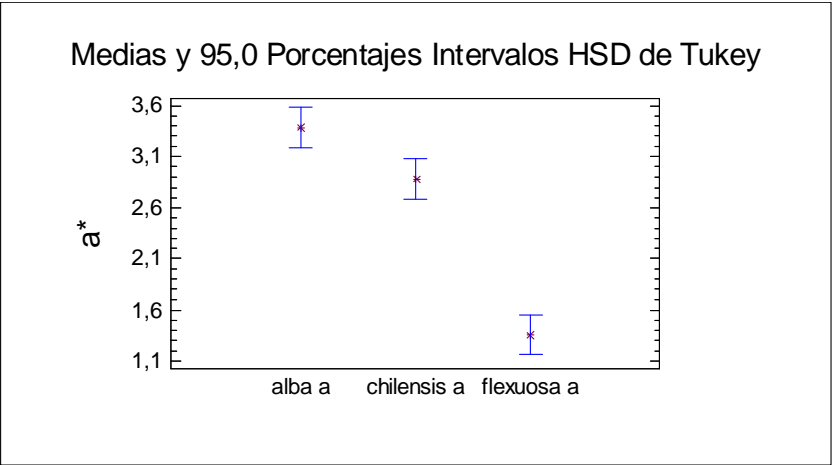
Resultados estadísticos- Test de Tukey para coordenada “a” del sistema Lab*

Contraste Múltiple de Rango

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey				
	Frec.	Media	Grupos homogéneos	
flexuosa a	3	1,35667	X	
chilensis a	3	2,88	X	
alba a	3	3,38333	X	
Contraste			Diferencias	+/- Límites
alba a - chilensis a			*0,503333	0,391779
alba a - flexuosa a			*2,02667	0,391779
chilensis a - flexuosa a			*1,52333	0,391779
* indica una diferencia significativa.				

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior de la salida muestra la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 3 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método actualmente utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0.



Resultados estadísticos- Test de Tukey para coordenada “b” del sistema Lab*

Contraste Múltiple de Rango

Método: 95,0 porcentaje HSD de Tukey

	Frec.	Media	Grupos homogéneos
flexuosa b	3	17,9433	X
alba b	3	24,5233	X
chilensis b	3	25,7467	X

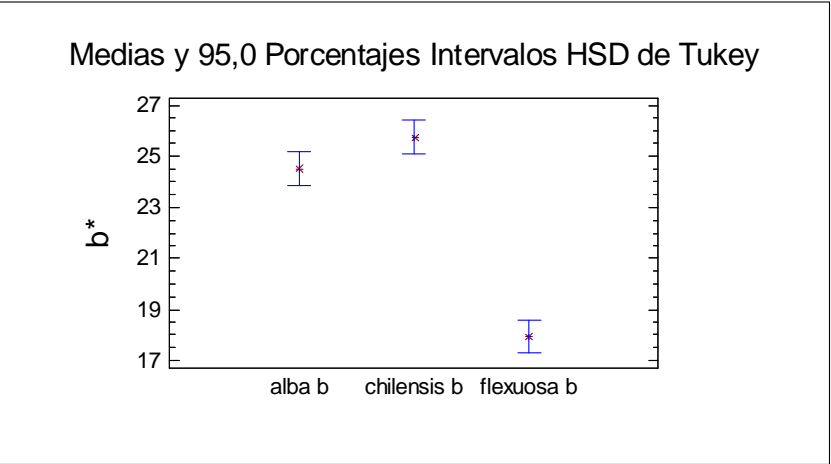
Contraste

	Diferencias	+/-	Lími
alba b - chilensis b	-1,22333	1,31273	
alba b - flexuosa b	*6,58	1,31273	
chilensis b - flexuosa b	*7,80333	1,31273	

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar las medias que son significativamente diferentes unas de otras. La mitad inferior de la salida muestra la diferencia estimada entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares, indica que éstos muestran diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95,0%. En la parte superior de la página, se identifican 2 grupos homogéneos según la alineación del signo X en la columna. Dentro de cada columna, los niveles que tienen signo X forman un grupo de medias entre las cuales no hay diferencias estadísticamente significativas. El método actualmente utilizado para discernir entre las medias es el procedimiento de la diferencia más francamente significativa de Tukey (HSD). Con este método, hay un 5,0% de riesgo de considerar uno o más pares como significativamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0. NOTA: los intervalos no son exactos debido a que el número de observaciones en cada nivel no es el mismo. Podría considerar utilizar el método de Bonferroni en su lugar.



Resultados estadísticos- Test de Tukey para la diferencia de color (ΔE)

Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: alba
Muestra 2: chilensis
Muestra 3: flexuosa

Muestra 1: 3 valores en el rango de 52,53 a 54,42
Muestra 2: 3 valores en el rango de 64,25 a 65,0
Muestra 3: 3 valores en el rango de 70,7 a 72,08

El StatAdvisor

Este procedimiento compara los datos en 3 columnas del archivo de datos actual. Realiza varias pruebas estadísticas y gráficas para comparar las muestras. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	497,084	2	248,542	476,57	0,0000
Intra grupos	3,12913	6	0,521522		
Total (Corr.)	500,214	8			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 476,571, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

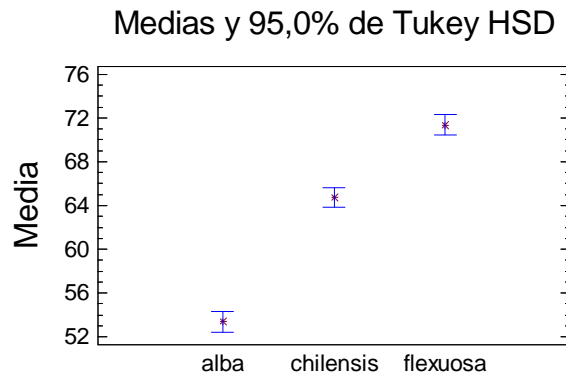
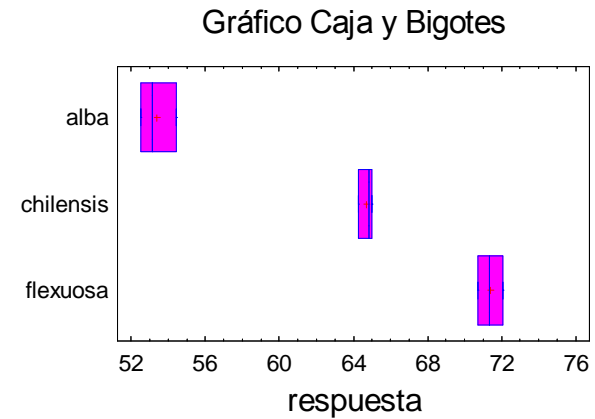
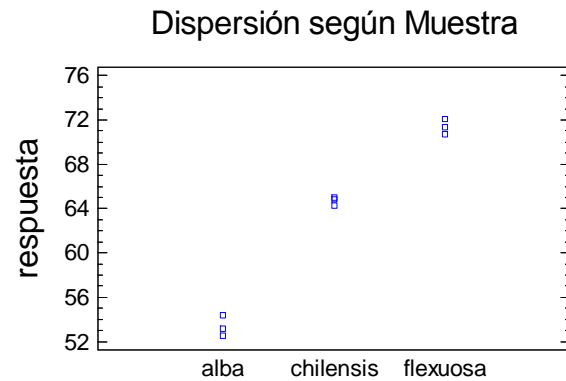
	Casos	Media	Grupos Homogéneos
alba	3	53,3667	X
chilensis	3	64,7033	X
flexuosa	3	71,37	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
alba - chilensis	*	-11,3367	1,80921
alba - flexuosa	*	-18,0033	1,80921
chilensis - flexuosa	*	-6,66667	1,80921

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.



Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: alba a
Muestra 2: chilensis a
Muestra 3: flexuosa a

Muestra 1: 3 valores en el rango de 3,24 a 3,64
Muestra 2: 3 valores en el rango de 2,71 a 3,0
Muestra 3: 3 valores en el rango de 1,34 a 1,39

El StatAdvisor

Este procedimiento compara los datos en 3 columnas del archivo de datos actual. Realiza varias pruebas estadísticas y gráficas para comparar las muestras. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	6,68127	2	3,34063	136,60	0,0000
Intra grupos	0,146733	6	0,0244556		
Total (Corr.)	6,828	8			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 136,6, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homogéneos
flexuosa a	3	1,35667	X
chilensis a	3	2,88	X
alba a	3	3,38333	X

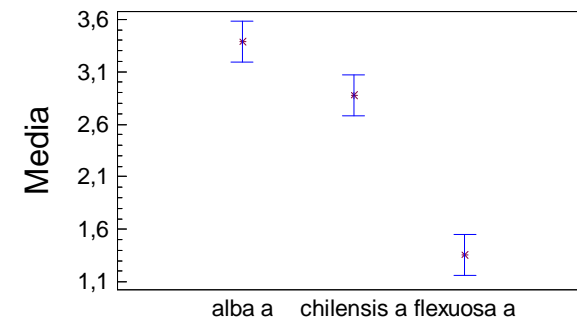
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
alba a - chilensis a	*	0,503333	0,391779
alba a - flexuosa a	*	2,02667	0,391779
chilensis a - flexuosa a	*	1,52333	0,391779

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Medias y 95,0% de Tukey HSD



Dispersión según Muestra

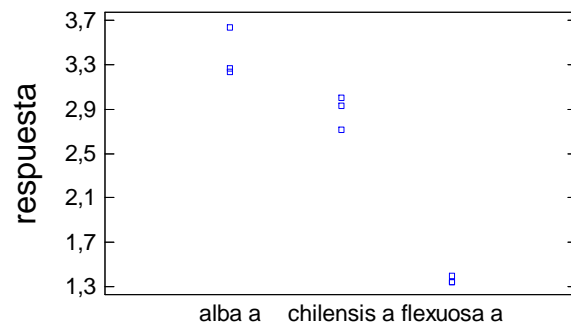
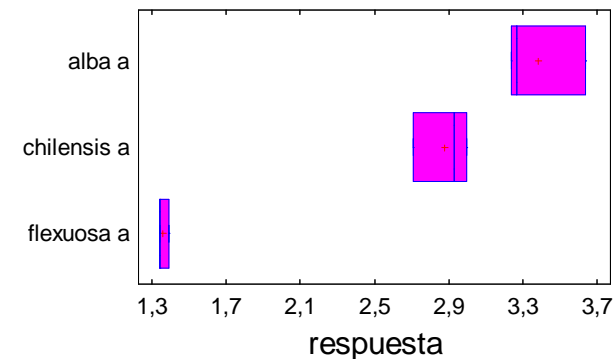


Gráfico Caja y Bigotes



Comparación de Varias Muestras

Muestra 1: alba b
Muestra 2: chilensis b
Muestra 3: flexuosa b

Muestra 1: 3 valores en el rango de 23,58 a 25,21
Muestra 2: 3 valores en el rango de 25,52 a 26,05
Muestra 3: 3 valores en el rango de 17,82 a 18,16

El StatAdvisor

Este procedimiento compara los datos en 3 columnas del archivo de datos actual. Realiza varias pruebas estadísticas y gráficas para comparar las muestras. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes

de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Tabla ANOVA

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	105,685	2	52,8425	192,46	0,0000
Intra grupos	1,6474	6	0,274567		
Total (Corr.)	107,332	8			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de los datos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 192,458, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de las 3 variables con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

	Casos	Media	Grupos Homógeneos
flexuosa b	3	17,9433	X
alba b	3	24,5233	X
chilensis b	3	25,7467	X

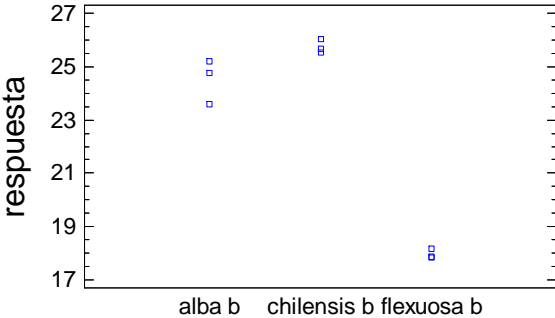
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
alba b - chilensis b		-1,22333	1,31273
alba b - flexuosa b	*	6,58	1,31273
chilensis b - flexuosa b	*	7,80333	1,31273

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación multiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 2 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Dispersión según Muestra



Medias y 95,0% de Tukey HSD

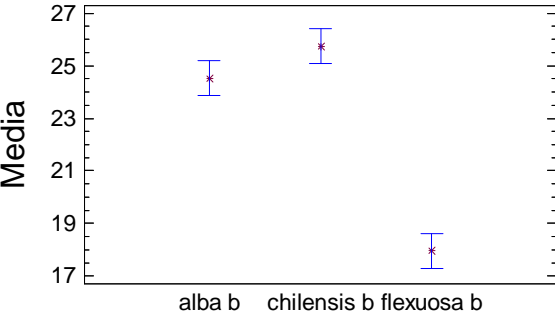


Gráfico Caja y Bigotes

